VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỘI NGHỊ
KHOA HỌC

ĐA DẠNG SINH HỌC VÀ CÁC CHẤT CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC VÌ SỰ PHÁT TRIỂN BỀN VỮNG

NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC TỰ NHIÊN VÀ CÔNG NGHỆ

NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC TỰ NHIÊN VÀ CÔNG NGHỆ
Nhà A16 - Số 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội
Điện thoại: Phòng Phát hành: **024.22149040**; Phòng Biên tập: **024.37917148**;
Phòng Quản lý Tổng hợp: **024.22149041**;
Fax: **024.37910147**; Email: **nxb@vap.ac.vn**; Website: **vap.ac.vn; ebook.vap.ac.vn**

HỘI NGHỊ KHOA HỌC

ĐA DẠNG SINH HỌC VÀ CÁC CHẤT CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC VÌ SỰ PHÁT TRIỂN BỀN VỮNG

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

Chịu trách nhiệm xuất bản
Giám đốc, Tổng biên tập
PHẠM THỊ HIẾU

Biên tập viên
Hà Thị Thu Trang

Trình bày kỹ thuật
Đỗ Hồng Ngân

Thiết kế bìa
Đỗ Hồng Ngân

Liên kết xuất bản:
Viện Hóa học
Địa chỉ: Số 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội

ISBN: 978-604-357-358-9

Số xác nhận đăng ký xuất bản: 607-2025/CXBIPH/01-05/KHTNVCN.
Số quyết định xuất bản: 05/QĐ-KHTNCN, cấp ngày 21 tháng 02 năm 2025.
Nộp lưu chiểu quý I năm 2025.

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỘI NGHỊ KHOA HỌC
ĐA DẠNG SINH HỌC VÀ CÁC CHẤT CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC VÌ SỰ PHÁT TRIỂN BỀN VỮNG

NHÀ XUẤT BẢN KHOA HỌC TỰ NHIÊN VÀ CÔNG NGHỆ

BAN TỔ CHỨC
Hội nghị Khoa học Đa dạng Sinh học và
Các chất có hoạt tính sinh học vì sự phát triển bền vững*

STT	Họ và tên	Đơn vị công tác	Trách nhiệm
1	GS.TSKH. Trần Văn Sung	Viện Hóa học	Trưởng Tiểu ban
2	GS.TS. Phạm Quốc Long	Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên	Phó Trưởng Tiểu ban
3	PGS.TS. Nguyễn Văn Sinh	Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật	Phó Trưởng Tiểu ban
4	TS. Lê Hùng Anh	Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật	Thành viên
5	GS.TS. Ngô Quốc Anh	Viện Hóa học	Thành viên
6	PGS.TS. Phạm Văn Cường	Viện Hóa sinh biển	Thành viên
7	PGS.TS. Hoàng Thị Kim Dung	Viện Công nghệ hóa học	Thành viên
8	PGS.TS. Đào Việt Hà	Viện Hải dương học	Thành viên
9	GS.TS. Thái Hoàng	Viện Kỹ thuật nhiệt đới	Thành viên
10	GS.TS. Trần Đại Lâm	Viện Kỹ thuật nhiệt đới	Thành viên
11	PGS.TS. Phan Kế Long	Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam	Thành viên
12	PGS.TS. Phạm Hồng Minh	Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên	Thành viên
13	TS. Nguyễn Hữu Toàn Phan	Viện Nghiên cứu khoa học Tây Nguyên	Thành viên
14	PGS.TS. Trần Ngọc Quyển	Viện Khoa học vật liệu ứng dụng	Thành viên
15	GS.TS. Đỗ Công Thung	Viện Tài nguyên và Môi trường biển	Thành viên
16	GS.TS. Nguyễn Văn Tuyến	Học viện Khoa học và Công nghệ	Thành viên

Thư ký Hội nghị:

PGS.TS. Trần Thị Phương Thảo, Viện Hóa học.

ThS. Lê Quang Trường, Viện Hóa học.

**Theo Quyết định số 219/QĐ-VHL ngày 06/02/2025 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.*

MỤC LỤC

Bài tổng quan

1 Một số kết quả hoạt động khoa học và công nghệ trong lĩnh vực các chất có hoạt tính sinh học của Viện Hóa học giai đoạn 2020-2025 1

Trần Văn Chiến, Ngô Quốc Anh

2 The Youth union of the Institute of Ecology and Biological Resources in the era of integration: Contributions to scientific research 13

Huu Tien Nguyen, Ngoc Linh Ha, Duc Binh Tran, Ngoc Tu Ly

3 Một số kết quả nghiên cứu nổi bật về hóa học và hoạt tính sinh học từ sinh vật biển Việt Nam ở Viện Hóa sinh biển giai đoạn 2020-2025 23

Phạm Văn Cường, Đoàn Thị Mai Hương, Nguyễn Xuân Cường, Nguyễn Hoài Nam, Nguyễn Văn Thanh, Nguyễn Thị Minh Hằng, Lê Thị Hồng Minh, Trần Hồng Quang, Bùi Hữu Tài, Nguyễn Xuân Nhiệm, Phan Văn Kiệm, Châu Văn Minh

4 Thành tích hoạt động Khoa học và Công nghệ của Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên (giai đoạn 2020-2024) 43

Phạm Thị Hồng Minh, Phạm Minh Quân, Nguyễn Mạnh Cường, Đỗ Hữu Nghị, Phạm Quốc Long,

5 Study overview at Institute of Chemical Technology 2020-2024 48

Hoang Thi Kim Dung

6 Hoạt động nghiên cứu khoa học của Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên giai đoạn 2020-2024 60

Nguyễn Hữu Toàn Phan, Nông Văn Duy, Nguyễn Thị Thu Hiền, Trần Thái Vinh

7 Một số thành tựu 50 năm (1975-2025) và định hướng nghiên cứu hóa sinh biển của Viện Hải dương học 70

Đào Việt Hà

8 Hoạt động của Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam giai đoạn 2018-2024. 82

Nguyễn Trung Minh, Đỗ Thị Hải, Hoàng Thị Nga, Phạm Hồng Thái, Phùng Quốc Khánh, Phan Kế Long

Bài nghiên cứu

9 Preparation of microcapsules and nanoemulsion of green insecticides to control stored grain pests 89

Do Van Cong, Pham Thi Thu Huong, Vo Thi Kieu Anh, Nguyen Thi Thu Trang, Akbar Satriawan, Arinafril, Do Thi Kim Loan, Vu Thi Phuong Binh, Tran Dai Lam, Le Dang Quang

10 Sử dụng GIS để nghiên cứu phân bố dơi ở vùng Đông Bắc Việt Nam: Ứng dụng trong thiết kế khu vực ưu tiên bảo tồn 98

Lê Quang Tuấn, Trần Anh Tuấn, Vương Tân Tú, Lê Minh Hạnh, Chu Thị Hằng

11 Species diversity and uses of flowering plants in the north central region of Vietnam 109

Tran The Bach, Do Van Hai, Bui Hong Quang, Nguyen Thi Thanh Huong, Duong Thi Hoan, Le Ngoc Han, Tran Duc Binh, Vu Anh Thuong, Nguyen Thu Thuy, Vu Ha Phuong, Nguyen Thi Kim Trien, Bui Thu Ha, Ha Minh Tam

12 Nghiên cứu phân lập các hợp chất thứ cấp từ chủng xạ khuẩn *Streptomyces spriroverticillatus*, *Streptomyces cyaneus Streptomyce*s VTCC43168 và hoạt tính kháng chủng *Mycobacterium smegmatis*, kháng viêm của các chủng này 119

Huỳnh Thị Ngọc Ni, Nguyễn Thị Lưu, Trần Văn Chiến, Trần Văn Sung, Nguyễn Kim Nữ Thảo, Jin-hua Cheng, Joo Won Suh, Trần Thị Phương Thảo

13 Chemical constituents of the sea snail *Clypeomorus bifasciata* 130

Nguyen Phuong Thao, Vu Thanh Trung, Pham Thanh Binh, Kieu Thi Phuong Linh, Nguyen Van Thanh

14 Nghiên cứu và bảo tồn đa dạng sinh học phục vụ phát triển xanh và bền vững ở Việt Nam 138

Nguyễn Quảng Trường, Lê Hùng Anh, Đỗ Văn Hài

15 Study on chemical constituents of *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. (Orchidaceae) 148

Tran Thi Ngoc Hanh, Pham Van Huyen, Nguyen Thi Thu Hien, Nguyen Thi Dieu Thuan, Nguyen Huu Huong Duyen, Nguyen Huu Toan Phan

16 Đánh giá ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng LED đa phổ bổ sung tới sinh trưởng của Hương nhu trắng (*Ocimum gratissimum* L.) trong nhà lưới 156

Vũ Thị Nghiêm, Tống Quang Công, Trần Quốc Tiến, Chu Thị Thu Hà

17 An effective synthesis of (Z)-3-dodecen-1-ol and its application in insect pheromone traps 166

Le Van Dung, Nguyen Thanh Danh, Dang Chi Hien

18 Chemical constituents of the leaves of *Aralia dasyphylla* Miq. (Araliaceae) 174

Nguyen Thi Thu Hien, Nguyen Thi Dieu Thuan, Pham Van Huyen, Tran Thi Ngoc Hanh, Nguyen Huu Huong Duyen, Nguyen Huu Toan Phan

19 Chemical constituents of the roots of *Polyscias fruticosa* L. Harms. (Araliaceae) 181

Pham Van Huyen, Tran Thi Ngoc Hanh, Nguyen Thi Dieu Thuan, Nguyen Huu Huong Duyen, Nguyen Thi Thu Hien, Nguyen Huu Toan Phan

20 Assessment of antioxidant potential and comprehensive chemical analysis of *Terminalia chebula* extracts using LC-MS/MS and GNPS 190

Ha My Nhan, Kieu Dang Minh Nhut, Pham Thi Nhat Trinh, Do Chiem Tai, Tong Thanh Danh, Dang Thi Le Hang, Le Tien Dung

21 Bài toán về kiểm soát trai, ốc nước ngọt để phòng chống sự lan truyền bệnh sán lá ký sinh và việc bảo vệ đa dạng sinh học của nhóm động vật này 203

Nguyễn Mạnh Hùng, Nguyễn Văn Hà

22 Các hợp chất Spirostanol steroid từ rễ loài *Dracaena elliptica* 216

Ngô Anh Bằng, Phan Thị Thanh Hương, Nguyễn Việt Dũng, Dương Thị Hải Yến, Đan Thị Thúy Hằng, Nguyễn Xuân Nhiệm, Bùi Hữu Tài, Phan Văn Kiệm

23 Nghiên cứu thành phần hóa học từ rễ loài sâm bố chính *Abelmoschus sagittifolius* 226

Nguyễn Huy Hoàng, Đỗ Thị Trang, Dương Thị Dung, Phạm Hải Yến, Bùi Hữu Tài, Nguyễn Xuân Nhiệm, Phan Văn Kiệm

24 Fabrication of electrospun nanofibers containing active ingredients diosmetin and silver nanoparticles using dragon fruit extract as reducing agent 234

Anh Khoa Ton, Hoang Bao Ngoc Pham, Thi Kim Chi Huynh, Hoang Phuc Nguyen, Thi Cam Thu Nguyen, Thi Hong An Nguyen, Xuan Ngoc Nguyen, Thi Kim Dung Hoang

25 Advanced pollutants removal and biomass production from domestic wastewater using *Chlorella sorokiniana* C_{BEO} in raceway pond 243

Luu Thi Thu Ha, Nguyen Thi Phuong Dung, Bui Thi Thu Uyen, Ba Thi Duong, Dao Duy Khanh, Tran Huu Quang, Tran Dang Thuan

26 Cliotide cyclotides, plant-derived peptides from *Clitoria ternatea* Linn: Isolation, characterization and antimicrobial activity 256

Tam T. T. Tran, Son H. Pham, Yen N. D. Pham, Son T. Cu, Tu V. Tran, Tuan H. N. Nguyen, Henry Bui, Tien T. Dang

27 Species diversity and essential oil potential of Mint species (Lamiaceae) in the Central Highlands 270

Tran Thai Vinh, Nong Van Duy, Vu Kim Cong, Dang Thi Tham, Quach Van Hoi

28 Nghiên cứu tổng hợp và đánh giá hoạt tính sinh học của một số dẫn xuất benzazole 280

Phạm Thị Làn, Lê Đức Long, Nguyễn Lê Anh, Ngô Quốc Anh

29 Báo cáo tổng quan hoạt động nghiên cứu khoa học của Phòng Nghiên cứu Phát triển dược phẩm - Viện Hóa học 285

Ngô Quốc Anh, Nguyễn Lê Anh, Võ Ngọc Bình, Lê Đức Long, Phạm Tùng Lâm, Trần Thị Yến, Nguyễn Thị Thúy Hằng

30 Collagen từ vảy cá chép (*Cyprinus carpio*): Một số đặc trưng tính chất và hoạt tính sinh học 301

Nguyễn Thúy Chinh, Nguyễn Thị Thu Trang, Nguyễn Vũ Giang, Thái Hoàng

31 Khảo sát thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập từ cây chè vằng (*Jasminum subtriplinerve* Blume) thu tại Quảng Trị, Việt Nam 311

Chu Quang Truyền, Đặng Ngọc Phượng, Trần Văn Thành, Lê Thị Thảo, Võ Văn Cảnh, Trịnh Đình Trung, Vũ Thành Lộc, Nguyễn Xuân Hà, Lê Thị Phương Quỳnh, Đỗ Hữu Nghị, Nguyễn Mạnh Cường, Cầm Thị Ính

32 Hàm lượng lipid tổng và thành phần axit béo của hạt sâm Ngọc linh *Panax vietnamensis* Ha et Grushv (1985) 317

Đặng Thị Phương Ly, Trịnh Thị Thu Hương, Đào Thị Kim Dung, Nguyễn Thị Nga, Vasilii Svetashev I., Phạm Quốc Long

33 Nghiên cứu tạo chế phẩm siro và bột từ củ Khoai sâm (*Smallanthus sonchifolius*) 324

Trần Thị Tuyến, Phạm Cao Bách, Nguyễn Thị Hồng Vân

34 Hoạt tính kháng ký sinh trùng sốt rét *Plasmodium falciparum* của một số loài thực vật ở Việt Nam 333

Trần Thị Phương Thảo, Lê Quang Trường, Trần Đăng Nguyên, Trần Văn Lộc, Nguyễn Thị Lưu, Nguyễn Thế Anh, Nguyễn Thị Dung, Bùi Quang Phúc, Nguyễn Thị Thuỳ Dương, Nguyễn Quốc Bình, Chu Thị Thu Hà, Ngô Văn Hưng, Lê Thị Hồng Nhung, Lý Thị Thu Hoài, Myint Myint Khine, Irina Smirnova

Báo cáo tóm tắt

35 Phát triển các tác nhân chống ung thư mới chứa các khung pharmacophore dị vòng 345

Bàn Văn Phúc, Trần Quang Hưng, Đặng Thanh Tuấn

36 Nghiên cứu thành phần hóa học của một số loài động vật thân mềm biển ở Việt Nam 346

Nguyễn Văn Thanh

37 Nghiên cứu cấu trúc và mối quan hệ cấu trúc - hoạt tính của fucoidan chiết tách từ rong nâu 347

Nguyễn Ngọc Anh, Ngô Văn Quang, Quách Thị Minh Thu, Thành Thị Thu Thủy

38 Ứng dụng các phương pháp tính toán mô phỏng - kết hợp trí tuệ nhân tạo (AI) trong tìm kiếm và thiết kế thuốc 348

Phạm Minh Quân

MỘT SỐ KẾT QUẢ HOẠT ĐỘNG KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ TRONG LĨNH VỰC CÁC CHẤT CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA VIỆN HÓA HỌC GIAI ĐOẠN 2020-2025

Trần Văn Chiến, Ngô Quốc Anh*

Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

Trong giai đoạn 2020-2025, Viện Hóa học, với sự hỗ trợ kinh phí từ Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, đã chủ trì thực hiện một số nhiệm vụ khoa học và công nghệ trong lĩnh vực đa dạng sinh học và các chất có hoạt tính sinh học. Các nhiệm vụ này được thực hiện đồng thời với sự kết hợp giữa nghiên cứu cơ bản và nghiên cứu ứng dụng, nhằm phát triển các sản phẩm hỗ trợ điều trị bệnh phục vụ con người. Đối tượng nghiên cứu chủ yếu là các cây thuốc đã được sử dụng phổ biến trong dân gian. Kết quả nghiên cứu khoa học đã được công bố trên các tạp chí trong nước (40 bài) và quốc tế uy tín (224 bài), hoặc thông qua các bằng sáng chế (04 sáng chế) và giải pháp hữu ích (08 GPHI), tạo nền tảng vững chắc cho sự phát triển các sản phẩm thuốc hoặc thực phẩm chức năng trong tương lai gần.

1. GIỚI THIỆU CHUNG

Việc nghiên cứu và phát triển các cây thuốc dân tộc trong lĩnh vực dược phẩm là một phần không thể thiếu trong tiến trình phát triển thuốc chữa bệnh. Sự đa dạng về các loài trong thế giới thực vật có chứa lượng lớn các lớp chất có cấu trúc hóa học đa dạng, tạo lên sự đa dạng về phổ hoạt tính sinh học, với rất nhiều cơ chế hoạt động khác nhau, mở ra tiềm năng rất lớn cho việc phát triển các loại thuốc điều trị bệnh. Các lớp chất chính từ cây thuốc như alkaloid, flavonoid, glycoside và terpenoid, đã chứng minh tiềm năng ứng dụng trong điều trị viêm, sử dụng phát triển thuốc kháng sinh, chống ung thư, giảm đau, chống oxy hóa, điều trị bệnh tim mạch và hỗ trợ miễn dịch. Việc nghiên cứu thành phần hóa học của cây thuốc giúp xác định các hợp chất quý giá và đánh giá chính xác tiềm năng dược lý của chúng. Kết quả nghiên cứu không chỉ tìm ra những hoạt chất mới mà còn mang lại hiểu biết sâu sắc về cấu trúc hóa học, cơ chế tác động và tiềm năng ứng dụng trong điều trị bệnh. Bên cạnh các cây thuốc đã được nghiên cứu và ứng dụng, còn rất nhiều cây thuốc chưa được khai thác hoặc nghiên cứu đầy đủ. Đặc biệt, nhiều cây thuốc dân tộc từ các vùng địa lý khác nhau, các khu vực nhiệt đới và cận nhiệt đới, có thể chứa các hợp chất có tiềm năng dược lý mạnh mẽ nhưng chưa được khám phá. Việc nghiên cứu và phát triển cây thuốc không chỉ mở rộng phạm vi nghiên cứu mà còn tạo ra những cơ hội mới trong việc phát triển thuốc điều trị bệnh. Ngoài ra, các kết quả nghiên cứu có thể góp phần thúc đẩy các công nghệ sinh học và công nghệ sản xuất dược phẩm tiên tiến. Các công nghệ như nuôi cấy tế bào thực vật, phương pháp chiết xuất hiệu quả và tổng hợp sinh học giúp sản xuất các hợp chất dược liệu một cách bền vững, tăng cường năng suất và giảm chi phí sản xuất. Khi nguồn tài nguyên cây thuốc thiên nhiên hạn chế, công nghệ sinh học có thể giúp sản xuất các hợp chất từ cây thuốc với số lượng lớn mà không ảnh hưởng đến nguồn cung từ tự nhiên.

2. MỘT SỐ KẾT QUẢ NỔI BẬT VỀ NGHIÊN CỨU HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC TỪ THỰC VẬT

Giai đoạn 2020-2025, một trong những hướng nghiên cứu của Viện Hóa học là tập

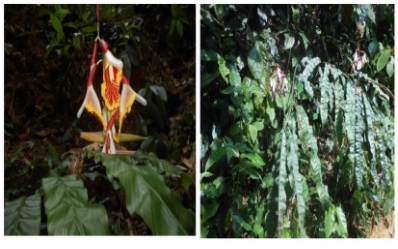
trung nghiên cứu phát triển các sản phẩm khoa học công nghệ với định hướng ứng dụng trong lĩnh vực điều trị bệnh. Mục tiêu chính trong giai đoạn này là phát triển các sản phẩm ứng dụng trong công nghệ dược phẩm, tạo ra các liệu pháp điều trị mới, hiệu quả và an toàn hơn. Để đạt được mục tiêu này, một số cây thuốc truyền thống được lựa chọn làm đối tượng nghiên cứu. Các cây thuốc đã được sử dụng lâu năm trong y học dân gian để điều trị nhiều bệnh lý khác nhau, không chỉ mang lại nguồn dược liệu phong phú mà còn chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học mạnh. Một số loài thực vật được nghiên cứu như trong Hình 1. Đây đều là các loài được biết đến với tác dụng chống viêm, giảm đau, chống vi khuẩn, kháng virus, hoặc các tác dụng sinh học khác có lợi cho sức khỏe. Việc nghiên cứu các cây thuốc truyền thống không chỉ giúp khai thác nguồn tài nguyên tự nhiên mà còn mở ra cơ hội phát triển những phương pháp điều trị mới, đặc biệt trong bối cảnh các bệnh lý hiện nay đang ngày càng trở nên phức tạp hơn. Các nghiên cứu bao gồm việc phân tích thành phần hóa học của các cây thuốc để tìm ra các hợp chất có hoạt tính sinh học mới, từ đó tạo ra các dẫn xuất mới có thể ứng dụng trong điều trị bệnh, dựa trên phân tích cơ chế tác động của chúng, từ đó tối ưu hóa

Quao nước
(Dolichandrone spathacea)

Bí đỏ (*Cucurbita*)

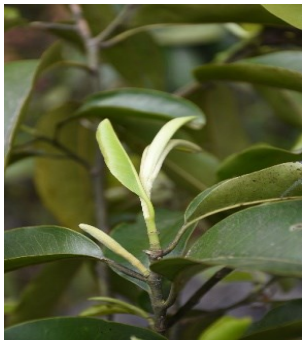
Rối Ấn (*Leea indica* (Burm. F.) Merr)

Ráy dại (*Alocasia odora* K. Koch)



Riềng Việt Nam (*Alpinia vietnamica*)

Nở ngày đất
(*Gomphrena celosioides* Mart)



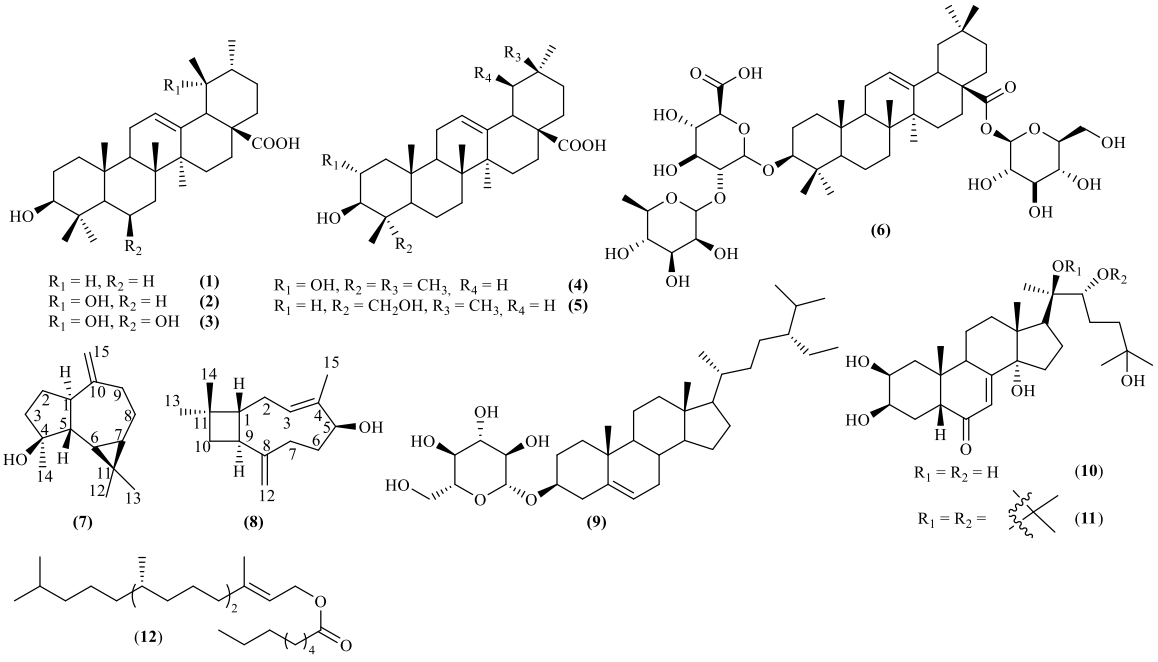
Giổi lá dai
(Giổi đá, *Magnolia coriacea*)

Xuyên tâm liên
(*Andrographis paniculata*)

Rau má (*Centella asiatica*)

Hình 1. Một số loài thực vật được chọn nghiên cứu từ 2020-2025

hiệu quả và giảm thiểu tác dụng phụ trong quá trình điều trị. Với sự tập trung vào nghiên cứu các cây thuốc truyền thống trong giai đoạn 2020-2025, các nhóm nghiên cứu từ Viện Hóa học hy vọng sẽ không chỉ mang lại những sản phẩm dược phẩm ứng dụng thực tiễn mà còn góp phần bảo tồn và phát triển nguồn tài nguyên cây thuốc truyền thống. Các kết quả nghiên cứu này có thể mở ra nhiều cơ hội mới trong việc phát triển các liệu pháp điều trị hiệu quả cho nhiều bệnh lý khác nhau, đặc biệt là các bệnh mạn tính và khó điều trị.

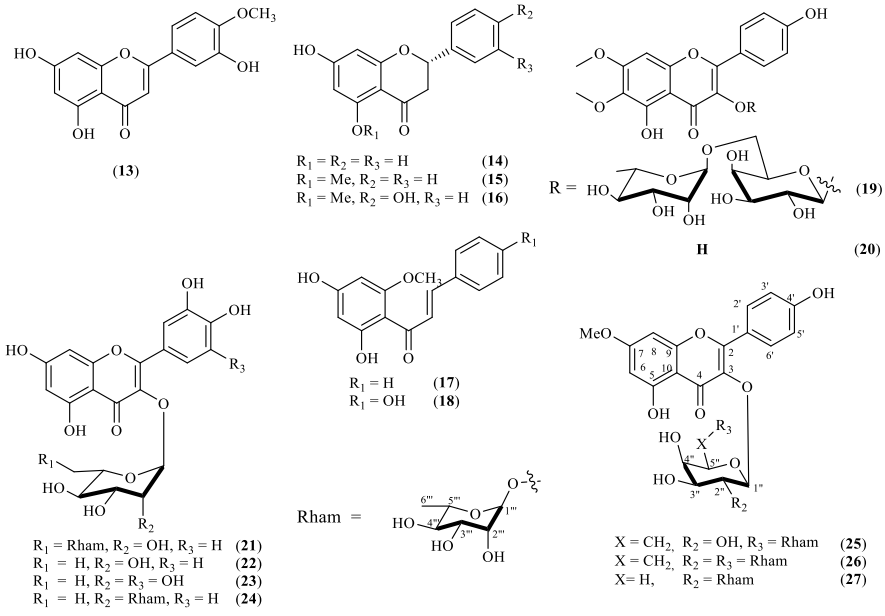


Hình 2. Nhóm chất terpenoid và steroid

Các kết quả nghiên cứu từ các loài thực vật này cho thấy tiềm năng phát triển về kháng viêm, kháng ung thư, cũng như hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase có thể phát triển sản phẩm hỗ trợ điều trị bệnh tiểu đường, hoặc ức chế enzyme xanthine oxidase định hướng trong điều trị bệnh gout. Từ cây quao nước (*Dolichandrone spathacea*) một số triterpenoid acid như ursolic acid (**1**), pomolic acid (**2**), uncaric acid (**3**) được phân lập xác định cấu trúc (Hình 2);[1] hoặc từ loài rối Ấn (*Leea indica* (Burm. F.) Merr), maslinic acid (2*α*,3*β*-dihydroxyolean-12-en-28-oic acid, **4**) và hederagenin (acid 3*β*,23-dihydroxyolean-12-en-28-oic, **5**) đã được phân lập được, cùng với daucosterol (**9**) và dẫn chất như *β*-sitosterol và stigmasterol. Đáng chú ý, daucosterol (**9**) không thể hiện hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* trên MCF7, SKLU-1, HeLa và HepG2, nhưng thể hiện hoạt tính kháng viêm *in vitro* mạnh ở nồng độ IC_{50} = 9,62±0,51 µg/mL. Điều này cho thấy daucosterol có tiềm năng ứng dụng trong điều trị các bệnh lý viêm mà không gây độc tế bào. Đánh giá hoạt tính kháng viêm *in vivo* trên thử nghiệm giảm phù nề chân chuột do carrageenin gây viêm và hoạt tính giảm đau *in vivo* dựa trên thử nghiệm giảm đau do acetic acid gây ra trên chuột cho thấy hợp chất **9** có tác dụng lên chuột gần như tương đương với chuột nhóm đối chứng tham chiếu sử dụng aspirin.[2,3]

Nghiên cứu về loài Nở ngày đất (*Gomphrena celosioides* Mart.) xác định sự tồn tại của khung oleanane triterpene saponin umbellatoside B (**6**), các steroid như 20-hydroxyecdysone (**10**) và 20-hydroxyecdysone 20,22-monoacetonide (**11**) (Hình 2). Umbellatosides B thể hiện khả năng ức chế enzyme xanthine oxidase và hoạt tính ức chế sản xuất nitric oxide tốt với giá trị IC_{50} tương ứng 33,78±0,49 và 19,55±0,61 µM.[4] Những kết quả này có thể ứng dụng phát triển loài nở đất trong điều trị gout, hoặc bệnh lý viêm nhiễm liên quan. Từ loài Giổi lá dai (Giổi đá - *Magnolia coriacea*), các sesquiterpene (+)-spathulenol (**7**) và caryophyllenol-II (**8**) đã được phân lập cùng với 2-phyten-1-yl-caprylate (**12**).[5] Những lớp chất sesquiterpene thường thể hiện khả năng chống viêm và kháng khuẩn mạnh, đặc biệt (+)-spathulenol và

caryophyllenol-II đã được nghiên cứu với các tác dụng tiềm năng trong việc điều trị các bệnh viêm nhiễm và giảm đau. Có thể thấy, việc xác định các lớp chất triterpenoid acid, sterol, saponin và terpene từ cây thuốc cung cấp nhiều thông tin khoa học, hứa hẹn mang lại nhiều cơ hội trong việc phát triển các liệu pháp điều trị bệnh từ các cây thuốc. Mỗi lớp chất đều có các đặc tính sinh học riêng biệt, từ khả năng chống viêm, giảm đau, kháng khuẩn đến tác dụng lên hệ miễn dịch và chuyển hóa năng lượng. Các nghiên cứu này không chỉ góp phần vào việc xác định các hoạt chất có tiềm năng dược lý mà còn giúp tối ưu hóa quá trình phát triển thuốc, hướng đến những sản phẩm an toàn và hiệu quả hơn cho người sử dụng, có thể mở rộng cơ hội phát triển các liệu pháp điều trị mới trong tương lai.



Hình 3. Nhóm chất flavonoid

Ngoài các terpenoid, nhóm flavonoid như: flavone, chalcone và flavonol glycoside khá phổ biến trong thực vật và đều thể hiện hoạt tính chống oxy hóa rất mạnh, giúp ngăn ngừa tổn thương tế bào và bảo vệ cơ thể khỏi các bệnh lý liên quan đến gốc tự do. Kết quả nghiên cứu từ cây Riềng Việt Nam do nhóm nghiên cứu của TS. Nguyễn Thanh Trà đã xác định được 2 flavone [quercetin-3-*O*-*α*-l-rhamnosyl (1→2)-*α*-l-rhamnoside (**24**) và diosmetin (**13**)], 3 flavanone [pinocembrin (**14**), alpinetin (**15**) và 5-*O*-methylnaringenin (**16**)] và 2 chalcone [cardamonin (**17**) và helichrysetin (**18**)] (Hình 3). Đáng chú ý chalcone **17**-**18** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên cả bốn dòng tế bào ung thư thử nghiệm như KB, MCF7, A549 và HepG2, trong đó chất **17** ức chế mạnh sự phát triển của tế bào ung thư A549 với giá trị IC_{50} là 6,81 µM. Ngoài ra, flavonoid glycoside **24** thể hiện hoạt tính chống oxy hóa mạnh, có thể bắt các gốc tự do DPPH với giá trị IC_{50} = 51,68 µM, giúp bảo vệ tế bào khỏi sự tổn thương do gốc tự do gây ra. Flavone **13** và flavanone **15** thể hiện khả năng ức chế enzyme α-glucosidase với giá trị IC_{50} từ 296,34-324,64 µM, cho thấy tiềm năng ứng dụng trong điều trị bệnh tiểu đường của các lớp chất này.[6]

Từ loài Giổi lá dai (*Magnolia coriacea*) flavonol glycoside rutin (**21**), quercitrin (**22**), rhamnocitrin 3-rutinoside (**25**), oxytroflavoside G (**26**) và curcucomoside D (**27**) (Hình 3) đã được xác định. Những flavonol này có khả năng ứng dụng rộng rãi trong y học, đặc biệt là trong việc bảo vệ sức khỏe tim mạch và chống viêm. Đặc biệt rutin và quercitrin được biết đến với khả năng chống oxy hóa và chống viêm, giúp ngăn ngừa tổn thương tế bào do gốc tự do và giảm thiểu tình trạng viêm trong cơ thể.[5] Nghiên cứu từ loài Nở ngày đất (*Gomphrena celosioides* Mart), TS. Ngô Văn Quang đã phân lập flavonoid như sesuvioside A (**19**), eupalitin (**20**) và myricitrin (**23**), trong đó **19** và **20** được xác định là những hoạt chất chính

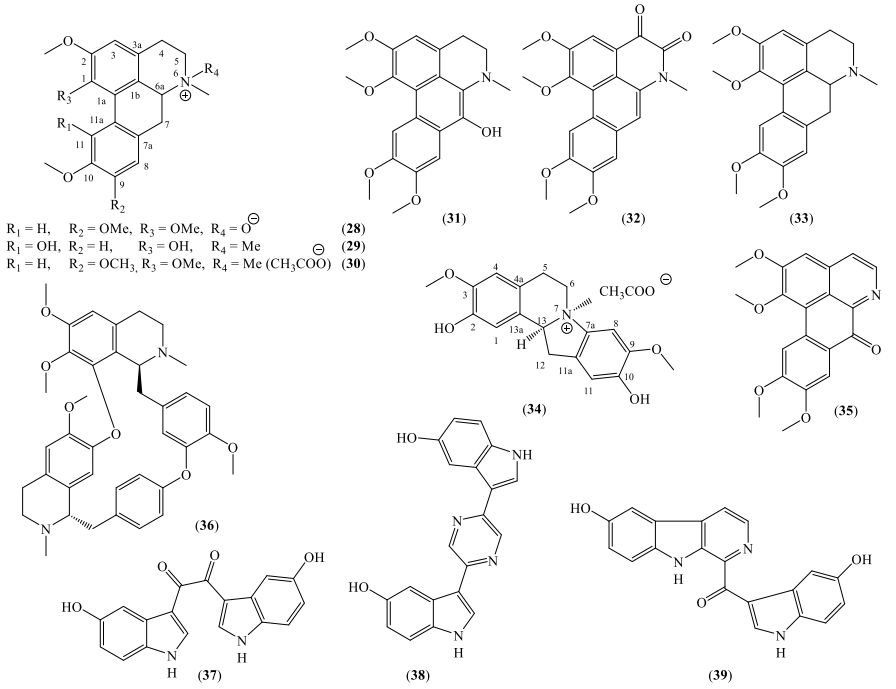
của cây, với hàm lượng tương ứng 3,04% và 0,0012%. Sesuvioside A (**19**) cho thấy khả năng ức chế sự sản xuất NO với giá trị IC_{50} = 18,34±0,15 µM, cũng như khả năng ức chế sự hình thành các cytokine tiền viêm như TNFα, IL6 và IL8 ở mức 40 µM trên dòng tế bào RAW264.7 được kích thích bằng LPS. Phân tích Western blot cho thấy **19** ức chế quá trình phosphoryl hóa protein p-ERK và *p*-p38 trong đại thực bào RAW264.7 với nồng độ 40 µM (con đường truyền tín hiệu nội bào - MAPK), cũng như làm giảm đáng kể mức oxy phản ứng nội bào (iROS). Ngoài ra, hoạt tính ức chế sự hình thành gốc tự do superoxide ($O_2^{\cdot-}$) của **19** thể hiện với giá trị IC_{50} là 0,19 mg/mL. Các kết quả nghiên cứu từ các loài cây như Riềng Việt Nam, Ngọc lan và Nở ngày đất, cho thấy chúng có tiềm năng ứng dụng lớn trong y học. Các lớp chất trong các loài thực vật này không chỉ cho thấy các lớp chất có cấu trúc hóa học đa dạng mà còn thể hiện nhiều hoạt tính sinh học, đặc biệt trong các lĩnh vực chống viêm, chống oxy hóa và điều trị ung thư.

Một lớp chất khá phổ biến khác trong thực vật là nhóm alkaloid cũng đã được phân tích xác định từ các loài thực vật nghiên cứu. Từ loài Giổi lá dai (Giổi đá-*Magnolia coriacea*), một số alkaloid như 7-hydroxy dehydroglaucine (**31**), benzylisoquinone-mangochinine acetate (**34**), pontevedrine (**32**), O-methylatheroline (**35**), (+)-glaucine *N*-oxide (**28**), magnoflorine (**29**), *N*-methyl glaucine acetate (**30**), (+)-(*S*)-glaucine (**33**) (Hình 4) đã được xác định. Các chất **28**, **30**, **32** và **35** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào đối với dòng tế bào ung thư KB, HepG2, Lu-1 và MCF7 ở mức trung bình đến yếu với (IC_{50} từ 20,0±0,42 µM đến 98,00±2,15 µM).[7] Trong khi từ loài *L. indica*, alkaloid tetrandrine (**36**) đã được phân lập và xác định cấu trúc. Tetrandrine được biết rõ hoạt tính kháng viêm cũng như gây độc tế bào mạnh. Kết quả nghiên cứu từ củ Ráy dại (*Alocasia odora* K. Koch) bởi nhóm TS. Nguyễn Thị Thu Hà đã xác định alocasin A (**37**), hyrtiosin B (**38**) và hyrtiosulawesine (**39**) (Hình 4). Alkaloid **37-39** thể hiện hoạt tính ức chế enzyme xanthine oxidase (XO), enzym α-glucosidase, cũng như ức chế sự sản xuất NO. Kết quả thử nghiệm *in vitro* cho thấy các alkaloid thể hiện hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase mạnh với giá trị IC_{50} từ 5,25±0,32 đến 29,59±3,7 µM, trong khi khả năng ức chế enzyme XO ở mức trung bình (IC_{50} từ 44,34±2,15 đến 93,29±4,7 µM). Ngoài ra, các alkaloid cũng thể hiện khả năng ức chế sản sinh NO ở mức yếu với giá trị IC_{50} 163,3±11,7 đến 294,9±9,8 µM. Từ kết quả thực nghiệm đã định hướng cho việc phát triển chế phẩm từ loài Ráy dại, với hàm lượng alkaloid đạt 44,95 %, có hoạt tính ức chế enzyme XO với giá trị IC_{50} là 18,56±1,2 µg/mL. Các kết quả nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng hạ axit uric trên chuột thực nghiệm của chế phẩm Ráy dại cho thấy, mức liều 5.000 mg/kg thể trọng không gây chết động vật thí nghiệm theo đường uống và mức liều 500 mg/kg có tác dụng hạ 26,31% hàm lượng acid uric máu so với mô hình bệnh.[8]

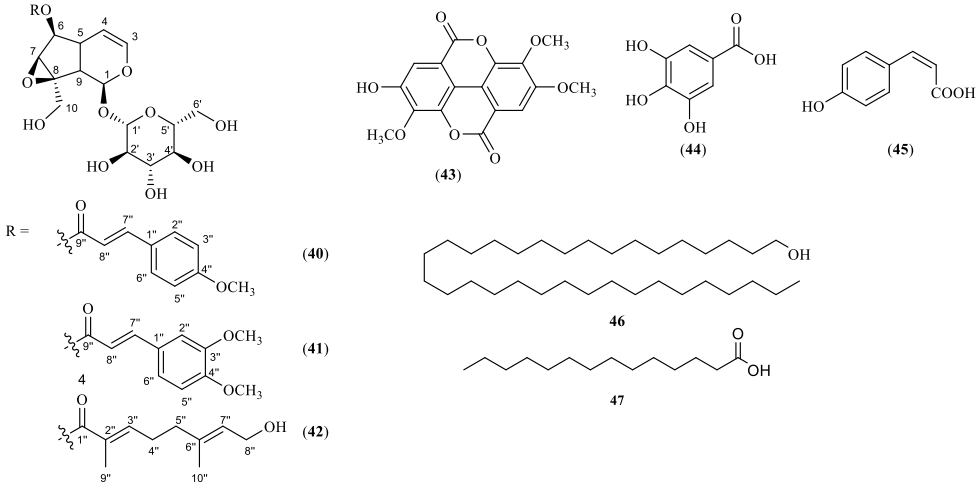
Trong nghiên cứu thành phần hóa học từ các loài cây thuốc, có thể thấy sự phong phú của các lớp hợp chất, đặc biệt là các iridoid, acid phenolic và acid béo mạch dài. Các hợp chất này không chỉ có cấu trúc độc đáo mà còn thể hiện nhiều hoạt tính sinh học, đặc biệt trong việc điều trị các bệnh lý như tiểu đường và viêm.

Từ cây quao nước thu tại rừng ngập mặn huyện Phú Lộc, Thừa Thiên Huế, các iridoid như 6-*O*-[(*E*)-4-methoxy cinnamoyl]catalpol (**40**), 6-*O*-[(*E*)-3,4-dimethoxy cinnamoyl]catalpol (**41**) và nemoroside (**42**) (Hình 5) đã được xác định bởi nhóm nghiên cứu của PGS.TS. Trần Thị Phương Thảo. Đây là nhóm chất đã biết có hoạt tính kháng viêm liên quan đến các bệnh lý về tiểu đường, có khả năng ức chế các tác nhân gây viêm, các yếu tố tiền viêm, cải thiện bệnh tiểu đường, ngăn ngừa các biến chứng, nhất là các biến chứng mạch máu. Kết quả thực nghiệm cho thấy iridoid **40** và **41** có khả năng ức chế tế bào macrophage RAW 264.7 sản sinh interleukin 6 (IL-6) và TNF-α ở nồng độ 25 µg/mL. Ngoài ra, khả năng ức chế enzyme α-glucosidase iridoid giảm theo trình tự **42** > **41** > **40**, trong đó nemoroside (**42**) có tiềm năng nhất với nồng độ IC_{50} = 0,05 µM, cao gấp 5.700 lần so với chất đối chứng acarbose (285 µM).[9] Kết quả nghiên cứu này cho thấy việc ứng dụng, phát triển cây quao

nước, đặc biệt là irioid **42** trong phát triển thuốc tiểu đường và bệnh viêm có nhiều triển vọng trong tương lai.



Hình 4. Nhóm chất alkaloid

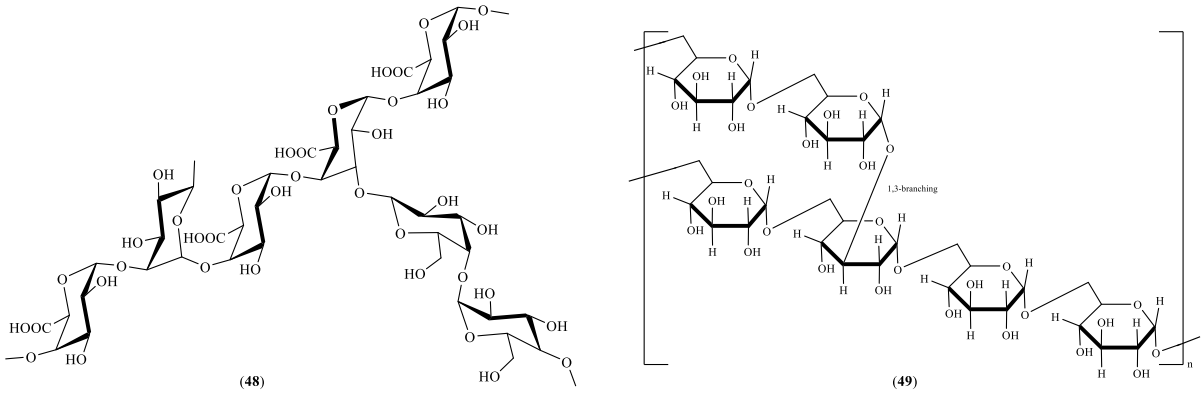


Hình 5. Nhóm chất phenol và iridoid

Các phenolic acid có thể được ứng dụng trong các chế phẩm bảo vệ sức khỏe, giúp giảm nguy cơ mắc các bệnh lý mãn tính do sự tích tụ của các gốc tự do, như bệnh tim mạch, ung thư và các bệnh liên quan đến lão hóa. Từ *L. indica* 3,4,3′-tri-O-methylellagic acid (**43**) và gallic acid (**44**) đã được phân lập và xác định cấu trúc, hay từ củ Ráy dại (*Alocasia odora* K. Koch) đã xác định được (*Z*)-3-(4-hydroxyphenyl)acrylic acid (**45**) và myristic acid (**47**) được phân lập (Hình 5). Cả hai hợp chất này thuộc nhóm phenolic acid, được biết đến với khả năng chống oxy hóa mạnh. Gallic acid đặc biệt có khả năng quét gốc tự do và có thể được sử dụng để phát triển các liệu pháp bảo vệ tế bào khỏi tổn thương do oxy hóa.

Việc nghiên cứu và phát triển các sản phẩm hỗ trợ điều trị bệnh, đặc biệt bệnh tiểu đường thu hút được quan tâm trong giai đoạn 2020-2025. Từ loài Bí đỏ (chi *Cucurbita*) nhóm nghiên cứu của PGS.TS. Thành Thị Thu Thủy đã phân lập và xác định được cấu trúc của 2 polysaccharide quan trọng là (1→4)-galactan (**48**) và (1→3,6)-glucan (**49**) (Hình 6). Kết quả

nghiên cứu *in vitro* và *in vivo* cho thấy hai polysaccharide này có hoạt tính chống tiểu đường rất tốt. Kết quả nghiên cứu về các polysaccharide này đã được khẳng định qua Bằng độc quyền sáng chế số 37619, cho thấy tính mới mẻ và tiềm năng ứng dụng cao của kết quả nghiên cứu. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu được công bố trên các tạp chí khoa học quốc tế uy tín, chứng minh tính xác thực và giá trị khoa học của kết quả đề tài.[10,11]

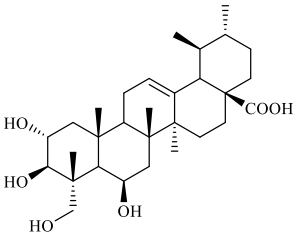


Hình 6. Nhóm chất polysaccharide

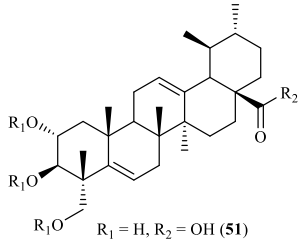
3. MỘT SỐ NGHIÊN CỨU VỀ BÁN TỔNG HỢP VÀ TỔNG HỢP TOÀN PHẦN TÌM KIẾM HOẠT CHẤT TIỀM NĂNG

Việc lựa chọn các chất tiềm năng để đa dạng hóa cấu trúc hóa học của chúng qua việc bán tổng hợp hoặc tổng hợp toàn phần là một hướng nghiên cứu đầy tiềm năng và có ý nghĩa quan trọng trong phát triển dược phẩm. Các hợp chất thiên nhiên từ thực vật, đặc biệt là các dược liệu truyền thống, lâu nay đã được chứng minh có nhiều hoạt tính sinh học như chống viêm, kháng vi sinh vật, giảm đau, hoặc thậm chí là chống ung thư. Tuy nhiên, một số hợp chất này thường có các hạn chế như độ ổn định thấp, khả năng hấp thụ kém trong cơ thể người, hoặc chi phí chiết xuất cao do nguồn cung cấp dược liệu bị giới hạn. Để khắc phục những hạn chế này, bán tổng hợp và tổng hợp các hợp chất mới từ các hợp chất có nguồn gốc thực vật trở thành giải pháp hữu hiệu. Việc bán tổng hợp cho phép tối ưu hóa cấu trúc của các hợp chất gốc thực vật, giúp cải thiện tính ổn định và khả năng hấp thu của chúng, đồng thời có thể tăng cường hiệu quả điều trị.

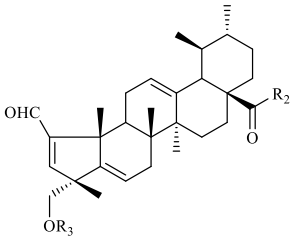
Từ madecassic acid (**50**), một trong những triterpenoid acid chính của Rau má (*Centella asiatica*), nhóm nghiên cứu của PGS.TS. Trần Văn Lộc đã bán tổng hợp một loạt các dẫn xuất mới qua việc tạo thành vòng A 5 cạnh không no có chứa nhóm aldehyde ở vị trí C-2. Kết quả các dẫn xuất mới như **51-58** (Hình 7) thể hiện hoạt tính gây độc tế bào mạnh hơn madecassic acid (**50**) trên cả 3 dòng tế bào thử nghiệm KB (ung thư biểu mô), HepG2 (ung thư biểu mô tế bào gan) và A549 (ung thư biểu mô phổi). Đặc biệt hai hợp chất gây độc tế bào chọn lọc trên các dòng tế bào ung thư KB và HepG2 so với các tế bào A549 được quan sát thấy với các giá trị IC_{50} lần lượt là 6,11 µM và 6,32 µM (**52**), 3,57 µM và 5,24 µM (**54**) trên KB và HepG2. Sự dehydrat hóa nhóm 6-OH (**51**) không thay đổi nhiều hoạt tính gây độc tế bào so với **50**.[12] Các dẫn xuất tổng hợp mới của madecassic acid cho thấy tiềm năng lớn trong việc phát triển các liệu pháp điều trị ung thư, đặc biệt là với khả năng tác động mạnh mẽ vào các dòng tế bào ung thư khác nhau. Những kết quả này có thể là nền tảng cho việc tiếp tục nghiên cứu và phát triển các thuốc chống ung thư từ dẫn xuất của madecassic acid, đồng thời mở ra cơ hội cho việc phát triển các hợp chất có tính chọn lọc cao, giảm thiểu tác dụng phụ đối với tế bào khỏe mạnh.



Madecassic acid (**50**)



$R_1 = H, R_2 = OH$ (**51**)
$R_1 = Ac, R_2 = NHCH_2CO_2Me$ (**52**)

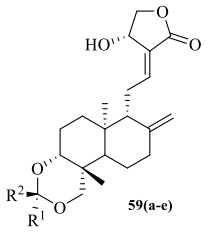


$R_2 = OH, R_3 = H$ **(53)**
$R_2 = OCH_2CH_3, R_3 = H$ **(54)**
$R_2 = NHCH_2CO_2Me, R_3 = H$ **(55)**
$R_2 = OH, R_3 = Ac$ **(56)**
$R_2 = OCH_2CH_3, R_3 = Ac$ **(57)**
$R_2 = NHCH_2CO_2Me, R_3 = Ac$ **(58)**

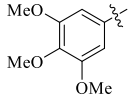
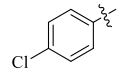
Hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* các dẫn xuất madecassic acid

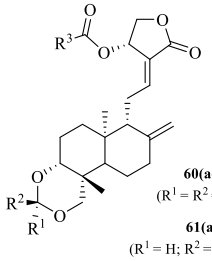
Hợp chất.	IC$_{50}$ (μM)		
	BK	HepG2	A549
50	157.30	178.77	-
51	43.81±1.18	121.44±1.36	-
52	**6.11±0.55**	**6.32±0.12**	**23.02±0.88**
53	57.78±1.26	55.77±0.32	29.64±0.24
54	**3.57±0.28**	**5.24±0.04**	**6.90±0.20**
55	13.27±0.43	13.19±0.5	24.67±0.94
56	47.47±3.25	20.44±1.07	22.07±1.92
57	46.04±1.75	51.92±3.16	83.81±1.54
58	14.67±0.58	13.73±0.02	45.82±3.08

Hình 7. Các dẫn xuất tổng hợp của madecassic acid phân lập từ Rau má (*Centella asiatica*)



59(a-e)

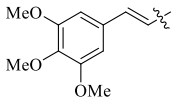
	a	**b**	**c**	**d**	**e**
R^1	CH_3	H	H	H	H
R^2	CH_3				



R^3 =

60(a-c)
($R^1 = R^2 = CH_3$)

61(a-f)
(R^1 = H; R^2 = thiophenyl)

	a	**b**	**c**	**d**	**e**
R^3 =					

Độc tính tế bào *in vitro* của các dẫn xuất andrographolide

Hợp chất	**IC$_{50}$** (μM)		
	HT-29	**HepG2**	**LNCaP**
Androg	45.92±2.54	56.61±1.46	51.38±1.29
59b	32.55±1.23	53.79±1.52	35.21±0.96
59c	29.32±1.35	28.91±1.95	31.26±1.62
59d	28.55±1.38	40.28±1.49	36.59±1.59
59e	12.89±0.58	11.14±0.26	9.25±0.29
60a	16.60±1.46	14.26±0.63	17.15±1.55
60b	17.63±0.57	19.57±0.97	17.91±1.07
61a	30.60±1.73	45.93±1.85	42.78±1.67
61c	27.21±1.24	17.94±0.89	28.98±1.22
61d	31.98±1.59	40.52±1.10	27.86±1.31
61e	24.17±0.81	25.05±0.90	17.05±0.98

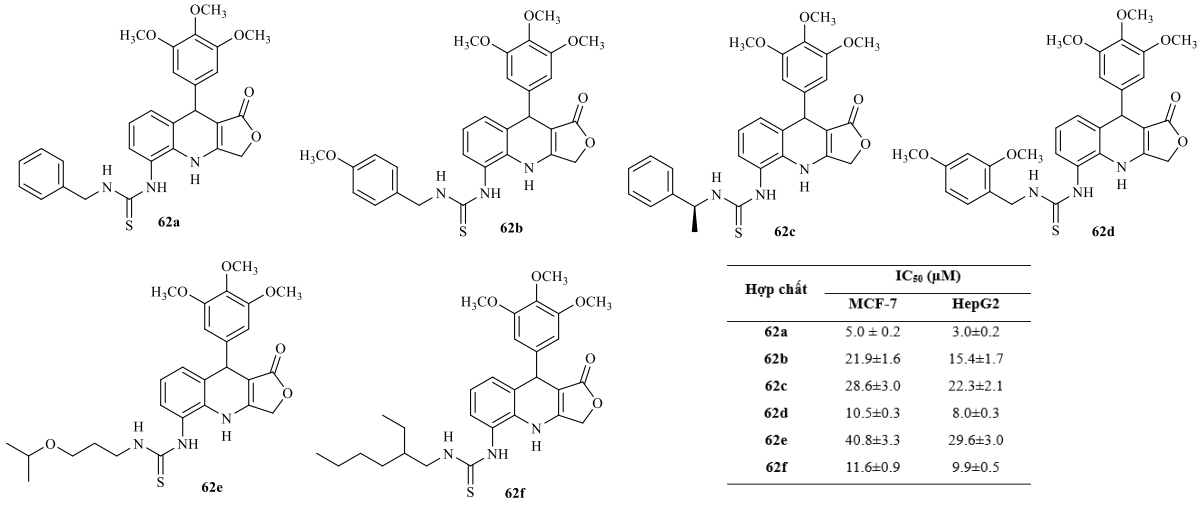
Hoạt tính ức chế sản sinh NO của các dẫn xuất andrographolide

Hợp chất	**IC$_{50}$** (μM)	Hợp chất	**IC$_{50}$** (μM)
Androg	1.32±0.08	**59d**	0.96±0.05
59a	0.34±0.02	**59e**	6.51±0.55
59b	5.36±0.13	**60a**	1.30±0.07
59c	7.52±0.51	**61a**	14.77±1.32

Hình 8. Một số dẫn andrographolide phân lập từ Xuyên tâm liên (*Andrographis paniculata*)

Từ andrographolide (Androg), một số dẫn xuất 3,19-isopropylidene-/hoặc arylidene-andrographolide đã được tổng hợp và đánh giá về hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* đối với các dòng tế bào ung thư HT-29, HepG2 và LNCaP dựa trên phương pháp thử nghiệm sulforhodamine B (SRB). Dẫn xuất **59e** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào mạnh nhất, với giá trị IC$_{50}$ tương ứng 11,14 μM và 9,25 μM đối với HepG2 và LNCaP. Kết quả chuyển hóa chứng minh hiệu quả tốt hơn trong việc nghiên cứu phát triển tác nhân có tác dụng gây độc tế bào ung thư, ví dụ như loại tế bào ung thư gan và tiền liệt tuyến. Sản phẩm ester hóa (**59a** và **59b**) tăng mạnh khả năng gây độc tế bào so với hợp chất đầu. Bên cạnh khả năng gây độc tế bào ung thư, các andrographolide tổng hợp như **59(a-e), 60a** và **61a** còn thể hiện khả năng ức chế mạnh sự sản xuất nitric oxide (NO) trong các tế bào đại thực bào RAW264.7 kích thích bởi LPS. Trong đó **59a** thể hiện khả năng ức chế sản sinh NO mạnh nhất với giá trị IC$_{50}$ là 0,34±0,02 μM, gấp 4 lần andrographolide.[13] Từ các kết quả trên, có thể thấy rằng andrographolide và các dẫn xuất của nó có tiềm năng lớn trong việc phát triển thành các thuốc điều trị ung thư và chống viêm hiệu quả. Việc tiếp tục nghiên cứu và tối ưu hóa cấu trúc của

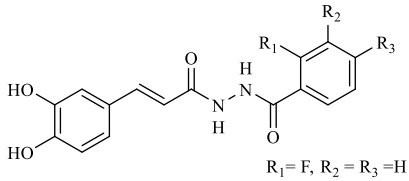
các hợp chất này sẽ giúp nâng cao hiệu quả điều trị và giảm thiểu tác dụng phụ trong tương lai.



Hợp chất	IC_{50} (μM)	
	MCF-7	HepG2
62a	5.0 ± 0.2	3.0±0.2
62b	21.9±1.6	15.4±1.7
62c	28.6±3.0	22.3±2.1
62d	10.5±0.3	8.0±0.3
62e	40.8±3.3	29.6±3.0
62f	11.6±0.9	9.9±0.5

Hình 9. Một số dẫn xuất tổng hợp dựa trên khung chất 4-aza-podophyllotoxin

Podophyllotoxin là một nhóm thuốc chống ung thư nổi tiếng, hoạt động chủ yếu thông qua cơ chế ức chế quá trình polyme hóa tubulin thành microtubule. Việc ngừng quá trình phân bào của tế bào ung thư diễn ra khi microtubule không thể hình thành, dẫn đến dừng lại quá trình phân chia tế bào và ức chế sự phát triển của khối u. Các dẫn xuất của 4-azapodophyllotoxin đặc biệt được biết đến là thuốc ức chế mạnh enzyme DNA topoisomerase II, enzyme có vai trò quan trọng trong việc duy trì cấu trúc DNA và giúp phân chia tế bào. Nhờ vào khả năng này, các hợp chất này có thể cản trở quá trình sao chép và phân chia tế bào, từ đó phát huy tác dụng chống ung thư mạnh mẽ. Mốt số dẫn xuất tổng hợp 4-aza-podophyllotoxin gắn vòng thế benzyl như **62a-62d** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào mạnh hơn so với nhóm thế gắn mạch thẳng 6 carbon **62f** (Hình 9). Sự có mặt của nhóm thế methoxy trong vòng thế benzyl ở các vị trí khác nhau cũng tạo thành các sản phẩm có độc tính tế bào khác biệt đối với MCF-7 và HepG2 (như chất **62a** và **62b-62d**).[14] Nhìn chung, nghiên cứu về các dẫn xuất của podophyllotoxin đã mở ra những hướng đi mới trong việc phát triển thuốc chống ung thư với hiệu quả cao và độc tính thấp. Việc cải thiện cấu trúc phân tử và tối ưu hóa các nhóm chức có thể giúp tăng cường hiệu quả điều trị và giảm thiểu tác dụng phụ, từ đó cải thiện chất lượng điều trị cho bệnh nhân.



Hoạt tính ức chế sản sinh NO của **63-65**

		IC_{50} (μM)
R_1= F, R_2 = R_3 =H	**63**	11.90 ± 0.73
R_1= R_3 = H, R_2 = F	**64**	24.17 ± 1.27
R_1= R_2 = H, R_3 = F	**65**	23.32 ± 2.94

Hình 10. Một số dẫn xuất caffeyl hydrazide

Caffeic acid và dẫn xuất caffeate của nó sở hữu nhiều hoạt tính sinh học như chống xơ vữa động mạch, kháng khuẩn, chống viêm, chống HIV, chống oxy hóa, chống u, kháng virus và bảo vệ gan. PGS.TS. Trịnh Thị Thủy đã tổng hợp một số dẫn xuất caffeyl hydrazide mới nhằm phát hiện các chất kháng viêm mới tiềm năng. Các dẫn xuất caffeyl tổng hợp được đánh giá về khả năng ức chế sự sản xuất nitric oxide (NO), một chất trung gian quan trọng trong quá trình viêm, trong tế bào đại thực bào RAW264.7 bị kích thích bởi lipopolysaccharide (LPS) (Hình 10). Sự sản xuất NO quá mức có thể dẫn đến viêm mạn tính và các bệnh lý liên quan đến viêm, vì vậy việc ức chế sự sản xuất NO có thể có tác dụng chống viêm mạnh mẽ.

Kết quả đánh giá cho thấy, dẫn xuất fluorobenzoylhydrazide **63**-**65** được phát hiện là các hợp chất chống viêm mạnh nhất với giá trị IC_{50} dao động từ 11,90 μM đến 24,17 μM, cho thấy tiềm năng phát triển các thuốc chống viêm hiệu quả.[15] Việc tối ưu hóa cấu trúc và xác định cơ chế tác dụng chi tiết hơn sẽ là những bước quan trọng tiếp theo trong việc phát triển các liệu pháp điều trị tiềm năng từ nhóm hợp chất này.

4. ĐỊNH HƯỚNG TƯƠNG LAI

Các hợp chất có nguồn gốc thiên nhiên luôn đóng vai trò quan trọng trong nghiên cứu phát triển thuốc. Nhờ sự đa dạng về cấu trúc hóa học, chúng có thể tác động lên nhiều đích sinh học khác nhau với những tính chất đặc thù mà chỉ các lớp chất này mới có. Do đó, nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học của các hợp chất thiên nhiên không chỉ đóng góp tích cực vào y học, dược phẩm, thực phẩm chức năng và mỹ phẩm mà còn mở ra tiềm năng ứng dụng rộng lớn từ nguồn dược liệu phong phú tại Việt Nam.

Nghiên cứu hóa học các hợp chất có hoạt tính sinh học từ thiên nhiên là một trong những thế mạnh của Viện Hóa học từ khi thành lập năm 1978. Sau 47 năm nghiên cứu phát triển, Viện Hóa học đã đạt được nhiều thành công và đóng góp vào sự phát triển chung của nền khoa học, đặc biệt trong lĩnh vực hóa học các hợp chất thiên nhiên, với rất nhiều cấu trúc mới đã được xác định từ các nguồn thực vật và vi sinh vật khác nhau. Trong bối cảnh hội nhập và toàn cầu hóa, giai đoạn 2025-2030, Viện Hóa học cần đổi mới, phát huy và thúc đẩy thế mạnh nghiên cứu trong lĩnh vực này. Phạm vi nghiên cứu cần được mở rộng sang các khu vực còn ít được khai thác hoặc chưa được nghiên cứu nhiều như các loài thực vật và vi sinh vật ở khu vực rừng nhiệt đới, vùng núi cao và biển sâu. Việc tiếp cận các khu vực có điều kiện khí hậu khắc nghiệt hơn có thể giúp phát hiện ra các lớp chất mới, tạo tiền đề cho nghiên cứu ứng dụng trong tương lai.

Bên cạnh nghiên cứu cơ bản như phân tích, xác định cấu trúc, đánh giá tính chất sinh hóa và cơ chế tác dụng của các hợp chất thiên nhiên từ thực vật, động vật và vi sinh vật, Viện Hóa học sẽ chú trọng vào thúc đẩy nghiên cứu ứng dụng. Mục tiêu cụ thể là đưa các sản phẩm nghiên cứu khoa học vào phục vụ đời sống, đặc biệt là phát triển các hợp chất thiên nhiên có tiềm năng thành dược phẩm. Những cây thuốc có công dụng đã được sàng lọc lâm sàng sẽ được nghiên cứu để phát triển thành thực phẩm chức năng và mỹ phẩm, góp phần nâng cao hiệu quả chăm sóc sức khỏe cộng đồng.

Ngoài ra, để đáp ứng nhu cầu nghiên cứu và phát triển trong lĩnh vực hóa học hợp chất thiên nhiên, việc đào tạo các nhà khoa học và chuyên gia có kiến thức chuyên sâu là hết sức cần thiết. Viện Hóa học sẽ tiếp tục đẩy mạnh công tác đào tạo, bồi dưỡng đội ngũ nghiên cứu viên nhằm nâng cao chất lượng nghiên cứu và ứng dụng, góp phần đưa Việt Nam tiệm cận với trình độ khoa học quốc tế, tạo điều kiện cho sự phát triển bền vững trong tương lai.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu và đánh giá hoạt tính sinh học của các chất có nguồn gốc từ cây thuốc dân gian là một lĩnh vực quan trọng trong phát triển thuốc chữa bệnh, đóng góp vào việc tìm ra các phương pháp điều trị mới, hiệu quả và an toàn hơn cho nhiều bệnh lý. Việc khai thác tiềm năng dược lý của các hợp chất thiên nhiên không chỉ mở ra cơ hội mới trong nghiên cứu y học mà còn giúp phát triển các sản phẩm thuốc bền vững, bảo vệ sức khỏe cộng đồng và bảo vệ môi trường. Do đó, nghiên cứu về hoạt tính sinh học của các chất từ cây thuốc dân gian là một trong những hướng đi quan trọng trong ngành dược phẩm hiện đại.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tran Thi Phuong Thao, Nguyen Linh Chi, Nguyen Thi Luu, Nguyen Thi Dung, Tran Van Loc, Nguyen Van Tuan, Trieu Quy Hung, Nguyen Thi Ai Nhung. Phytochemistry and anti-inflammatory activity of iridoids from *Dolichandrone spathacea* collected in the mangrove forest of Phu Loc district, Thua Thien Hue province, Vietnam, *Vietnam J. Chem.,* **2021***, 59,* 943-950.
2. Nguyen Thi Diep, Nguyen Thanh Tam, Dao Duc Thien, Do Thi Thao. Chemical constituents and biological activities of Vietnamese *Leea indica* (Burm. f.) Merr., *Lett. Org. Chem.*, in press.
3. Nguyen Thi Diep, Do Thi Thao, Pham Quynh Trang, Dao Duc Thien, Doan Lan Phuong. Isolation and biological activities of daucosterol from *Leea indica* (Burm. f.) Merr., *Vietnam J. Sci. Technol*., in press.
4. Ngo Van Quang, Nguyen Thi Mai Phuong, Dang Vu Luong, Nguyen Thi Trang Huyen, Do Thi Thanh Xuan, Thanh Thi Thu Thuy. Xanthine oxidase and nitric oxide inhibitory activities of compounds isolated from *Gomphrena celosioides*, *Vietnam J. Chem.*, **2024***, 62*(S1), 110-116.
5. Pham Thi Ninh, Nguyen Thi Dung, Tran Van Loc, Chu Thi Thu Ha, Tran Thi Phuong Thao, Tran Van Chien. Phytochemistry of the Aerial parts of *Magnolia coriacea* collected in Ha Giang, Viet Nam, *Vietnam J. Chem.,* **2022***, 60*(5), 667-673.
6. Nguyen Thanh Tra, Nguyen Thi Thuy Hoa, Nguyen Thi Thuy Linh, Nguyen Thi Thu Ha, Ba Thi Cham, Le Thi Tu Anh, Ninh The Son. Flavonoids from *Alpinia vietnamica*, and their cytotoxic, antioxidative, and α-glucosidase inhibitory activities, *Vietnam J. Chem.,* **2024***, 62*, 98-102.
7. Pham Thi Ninh, Thanh Q. Bui, Nguyen Thi Dung, Tran Van Sung, Tran Thi Phuong Thao, Chu Thi Thu Ha, Bui Van Thanh, Tran Van Chien, Phan Tu Quy, Nguyen Thanh Triet, Nguyen Minh Thai, Nguyen Thi Ai Nhung. *In silico* investigation of aporphine alkaloids isolated from *Magnolia coriacea* against α-glucosidase and tyrosine phosphatase 1B, *Natural Product Communications,* **2023***, 18*(7), 1-18.
8. Nguyen Thi Thu Ha, Pham Minh Quan, Nguyen Van Tuyen, Nguyen Thanh Tra, Le Thi Tu Anh, Ninh The Son. Chemical constituents of *Alocasia odora* rhizomes and their biological activities: Experimental and molecular docking approaches, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **2023***, 32*, 819-826.
9. Tran Thi Phuong Thao, Thanh Q. Bui, Phan Tu Quy, Nguyen Chi Bao, Tran Van Loc, Tran Van Chien, Nguyen Linh Chi, Nguyen Van Tuan, Tran Van Sung, Nguyen Thi Ai Nhung. Isolation, semi-synthesis, docking-based prediction, and bioassay-based activity of *Dolichandrone spathacea* iridoids: New catalpol derivatives as glucosidase inhibitors, *RSC Adv.*, **2021***, 11*, 11959-11975.
10. Thanh Thuy Thi Thu, Quach Thu Thi Minh, Yuguchi Yoshiaki, Nguyen Nu Thi, Van Ngo, Quang; Van Bui Nguyen, Kawashima Sugumi, Ho Cuong Duc. Molecular structure and anti-diabetic activity of a polysaccharide extracted from pumpkin *Cucurbita pepo*, *Journal of Molecular Structure*, **2021***, 1239*, 130507.
11. Thành Thị Thu Thủy và cộng sự. Phương pháp phân lập hợp chất polysacarit từ quả Bí đỏ bao gồm A-(1-3,6)-glucan và A-(1-4)-galactan làm thực phẩm chức năng hỗ trợ điều trị tiểu đường và hợp chất polysacarit thu được từ phương pháp này, *Bằng độc quyền,* **2023***, số 37619.*

12. Van Loc Tran, The Anh Nguyen, Nguyen Tran Dang, Thi Phuong Thao Tran, Tuan Anh Tran, Van Sung Tran, Van Chien Tran. Madecassic acid analogues with a five-membered A-ring and their cytotoxic activity, *Natural Product Research,* **2024**. DOI: 10.1080/14786419.2024.2427811.

13. Tran Van Chien, Tran Van Loc, Nguyen The Anh, Tran Van Sung, Tran Thi Phuong Thao. Cytotoxic and anti-inflammatory activity of 3,19-isopropylidene-/arylidene-andrographolide analogs, *Chemistry & Biodiversity,* **2023***, 20*(8), e202300420.

14. Thi Thuy Hang Nguyen, Le Anh Nguyen, Minh Quan Pham, Ngoc Binh Vo, Quoc Anh Ngo. Multicomponent synthesis of new 5-thiourea-4-aza-2,3 didehydropodophyllotoxins as potent cytotoxic agents, *Journal of Heterocyclic Chemistry*, **2023***, 60*, 834-846.

15. Trinh Thi Thuy, Nguyen Thi Thuy Linh, Hoa Nguyen Thi Thu, Ba Thi Cham, Tran Duc Quan, Thi Thao Do, Nguyen Thi Hoang Anh, Pham Minh Quan, Domenico V. Delfino, Tran Khac Vu. Novel *trans*-caffeate hydrazide derivatives: synthesis, inhibition of nitric oxide (NO) production and molecular docking studies, *Natural Product Research*, **2024***, 38*, 3964-3971.

Liên hệ: **Ngô Quốc Anh**
Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: ngoqanh@ich.vast.vn.

THE YOUTH UNION OF THE INSTITUTE OF ECOLOGY AND BIOLOGICAL RESOURCES IN THE ERA OF INTEGRATION: CONTRIBUTIONS TO SCIENTIFIC RESEARCH

Huu Tien Nguyen[1,2,*], Ngoc Linh Ha[1], Duc Binh Tran[1], Ngoc Tu Ly[1,3]

[1]*Institute of Ecology and Biological Resources, Vietnam Academy of Sciences and Technology, 18, Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam*

[2]*Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Sciences and Technology, 18, Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam*

[3]*Hanoi Metropolitan University, 98, Duong Quang Ham, Cau Giay, Hanoi, Vietnam*

Received 10 Feb 2025; Revised 20 Feb 2025; Accepted 1 Mar 2025

Abstract

The Youth Union members of the Institute of Ecology and Biological Resources (IEBR), a research institution of the Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), have made significant contributions to scientific research in the fields of ecology, biodiversity conservation, and environmental sustainability. This article highlights their impact on advancing research, particularly in the study of diverse organisms such as nematodes, insects, plants, and small mammals. Leveraging both traditional and modern methodologies, these members have enhanced our understanding of species taxonomy, ecological roles, and effective conservation strategies. By incorporating molecular techniques and integrative approaches, they have contributed to the discovery of new species, resolved taxonomic ambiguities, and supported sustainable management practices. Notable achievements include the molecular characterization of plant-parasitic nematodes, advances in insect taxonomy through next-generation sequencing, and ongoing efforts in botanical conservation and mammal studies. These efforts not only advance scientific knowledge in Vietnam but also support global biodiversity conservation initiatives, illustrating the essential role of the Youth Union members in shaping Vietnam's scientific landscape amid global integration.

Keywords: Insects, diversity, modern techniques, nematodes, new discoveries, plants, small mammals.

1. INTRODUCTION

The Institute of Ecology and Biological Resources (IEBR), a key component of the Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), is a prime research institution dedicated to advancing the fields of ecology, biodiversity, and biological resources in Vietnam. IEBR engages in fundamental research, technological development, and education aimed at promoting sustainable development and biodiversity conservation. As a Vietnam's scientific authority under the Convention on International Trade in Endangered Species (CITES), IEBR provides expert advice on biodiversity and wildlife management and has played a vital role in developing policies related to national parks, biosphere reserves, and biodiversity conservation.

IEBR's activities encompass a wide range of scientific endeavors, including ecosystem studies, the development of conservation strategies, the assessment of climate change impacts, and the management of pests and diseases. With a robust biological specimen collection and notable publications, such as the Flora and Fauna of Vietnam and the Red Data Book, IEBR has made significant contributions to both national and global environmental science.

Between 2019 and 2023, the Institute published over 600 ISI-indexed papers, secured 8 international patents, and described more than 400 new species. Notably, its Flora and Fauna of Vietnam series earned the prestigious A Prize for Excellent Books in 2019.

With a team of 103 researchers and state-of-the-art facilities, including the Me Linh Biodiversity Station, IEBR conducts around 80 projects annually and collaborates with over 30 international organizations on biodiversity research and conservation initiatives. Through its work, IEBR remains a cornerstone of Vietnam's efforts to conserve biodiversity and promote sustainable development.

The Youth Union members of IEBR, an integral part of the Institute, play a pivotal role in advancing scientific research, particularly in the areas of ecology, biodiversity conservation, and environmental sustainability. As Vietnam continues to integrate into the global scientific community, the Youth Union members have proactively contributed to both national and international research efforts. By fostering an environment of innovation and collaboration, the Youth Union members will have the opportunity to engage in research that addresses some of the most pressing environmental challenges of our time. In doing so, it not only supports the broader mission of IEBR but also shapes the future of scientific inquiry and environmental conservation in Vietnam.

This article highlights the significant contributions of the Youth Union members to scientific research at IEBR, with a particular focus on its work studying a wide range of organisms, from nematodes to plant and animal species. We will explore the evolution of the methodologies employed by the Youth Union members together with their teamwork and examine their impact on advancing ecological and biological studies. The paper will also emphasize the substantial role of the Youth Union members in advancing scientific knowledge, illustrating their essential contribution to shaping the scientific landscape in the era of global integration. In the next section, we will delve into the key research highlights, showcasing the notable contributions of Youth Union members together with their teamwork to the fields of ecology and biological resources (Fig. 1).

2. RESEARCH HIGHLIGHTS

2.1. Advances in Taxonomy and Application of the Nematode Group

Nematodes, members of the phylum Nematoda, are versatile multicellular organisms that adapt to a wide range of lifestyles, including parasitism in animals, plants, and insects, as well as free-living forms. These organisms are found across nearly all ecosystems on Earth, from freshwater to marine environments and from the equator to the polar regions (Perry & Moens, 2013). In this article, we will focus on the group of plant-parasitic nematodes being studied by our research group.

The study of nematodes, particularly plant-parasitic nematodes (PPNs), has significantly advanced over the past decades, contributing to a deeper understanding of their ecological roles, economic impacts, and management strategies. Historically, nematology research focused on taxonomy, morphology, and basic biological characteristics of nematodes. In Vietnam, early research efforts in the late 20th century aimed to document nematode species affecting agricultural systems, especially in tropical regions. These studies established a foundational understanding of nematode biodiversity, particularly concerning crops such as rice, coffee, black pepper, carrot, peanut, bean, and tomato. Early studies, such as those reported by Nguyen and Nguyen (2000), laid the groundwork for more targeted research on the impact of PPNs on agricultural productivity.

In recent years, nematological research has improved to incorporate more sophisticated molecular tools alongside traditional ecological and morphological techniques. The use of DNA barcoding and real-time PCR has allowed for precise identification of nematode species and has led to the discovery of cryptic species previously undetected by classical methods (Palomares-Rius *et al.*, 2014). In Vietnam, molecular tools have been particularly valuable in understanding the diversity and pathogenicity of nematodes affecting key crops like coffee, ginger, and ginseng. For instance, the morphological and molecular characterization of *Meloidogyne moensi* and *M. daklakensis* in coffee plantations by our group in IEBR in Vietnam revealed new insights into its damaging potential, providing a better understanding of PPN diversity (Le *et al.*, 2019; Trinh *et al.*, 2018). Furthermore, the application of scanning electron microscopy (SEM) has revolutionized morphological studies in Vietnam, providing detailed insights into nematode surface structures and aiding in the accurate characterization and differentiation of species, which are critical for advancing taxonomic and ecological research (Nguyen *et al.*, 2023). In addition to morphological and molecular techniques, the study of nematode biology is increasingly focused on developing sustainable management strategies. The use of biological control agents, such as nematophagous fungi and endophytic bacteria, has gained considerable attention in Vietnam as an eco-friendly alternative to chemical nematicides. Our recent studies have demonstrated the efficacy of *Metarhizium anisopiliae* and *Paecilomyces* sp. in controlling PPN populations and improving crop health (Nguyen *et al.*, 2024; Nguyen *et al.*, 2020b). These biological control agents offer a sustainable solution for managing nematodes while reducing the reliance on chemical pesticides, which can have negative environmental and health impacts.

Looking ahead, the future of nematology will likely be shaped by advances in molecular genomics, ecological modeling, and integrated pest management (IPM) strategies. The integration of next-generation sequencing (NGS) and metagenomic approaches will enable researchers to obtain a more comprehensive understanding of nematode diversity and their interactions with soil microbiomes (Bhat *et al.*, 2022; Peham *et al.*, 2017). These techniques could prove invaluable in Vietnam, where climate change and shifting agricultural practices may alter the dynamics of nematode populations. Understanding the genetic makeup of nematodes and their microbial interactions will be crucial for predicting how they may adapt to environmental changes and how these adaptations might affect their pathogenicity. Future research is also expected to focus on refining integrated pest management strategies that combine biological control, resistant crop varieties, and cultural practices to effectively mitigate the impact of PPNs. The development of nematode-resistant plant varieties, coupled with the use of biocontrol agents, will likely be a key area of focus in Vietnam. Additionally, improving the efficacy of biocontrol agents by exploring their synergistic effects with organic amendments or resistant cultivars could enhance the sustainability of nematode management strategies. As smallholder farmers in Vietnam face increasing challenges due to nematode infestations, IPM approaches that are both cost-effective and environmentally friendly will be crucial for ensuring food security and promoting sustainable agriculture. In short, the study of nematodes has progressed significantly over years, with Vietnam emerging as a key contributor to nematology research. From the early focus on species identification and taxonomy, research has evolved to incorporate molecular techniques and biological control strategies. The future of nematology holds great promise, with advancements in genomic tools and integrated pest management strategies offering new solutions for sustainable nematode management. As nematode-related challenges continue to threaten agricultural systems in

Vietnam and globally, the ongoing research in this field will play a critical role in ensuring greater agricultural productivity, environmental sustainability, and food security.

Figure 1. Research activities conducted by members of the Youth Union of the Institute of Ecology and Biological Resources

2.2. Unveiling taxonomic boundaries in insect groups: Past challenges, present advances, and future directions

Taxonomic confusion at the species level often arises due to unclear boundaries among insect groups. This challenge is exacerbated by the prevalence of cryptic, polymorphic, and synapomorphic species, as well as sister taxa that are difficult to distinguish. To address these complexities, our research group has employed both traditional taxonomic approaches and advanced integrative methods, including morphological examination, morphometry, molecular phylogenetics, and next-generation sequencing (Dang *et al.*, 2020; Ha, 2023; Ha *et al.*, 2022; Nguyen, 2021; Nguyen *et al.*, 2020a; Pham & Ahrens, 2024; Pham & Pham, 2021; Pham *et al.*, 2022; Tran *et al.*, 2023; Tran *et al.*, 2024). These efforts have led to the discovery of numerous new species, the identification of cryptic species groups, and the clarification of taxonomic boundaries within problematic genera. For instance, our team reclassified three

taxonomically problematic genera *Biasticus*, *Sphedanolestes*, and *Rhynocoris* (Insecta: Hemiptera: Heteroptera: Reduviidae) - into six distinct genera. This work exemplifies the value of integrative taxonomy in resolving ambiguities at higher taxonomic levels (Ha, 2023).

Research on insect taxonomy has historically faced limitations due to inappropriate and non-standard methods of sample collection, preservation, and analysis. The vast diversity of species, combined with their small size and morphological similarity, has made accurate classification challenging. Conventional methods often lead to inconsistent or incomplete taxonomic conclusions. Recognizing these limitations, our research team has integrated advanced techniques such as Sanger sequencing, next-generation sequencing (NGS), morphometry, and sophisticated data analysis software to overcome these challenges. These approaches have allowed for more reliable and comprehensive insights into species-level taxonomy.

Through the integration of conventional and modern taxonomic tools, our research group has achieved significant advancements in the discovery and classification of insect species. Notably, integrative analyses of 133 *Biasticus* specimens from Indo-China confirmed the presence of 31 distinct species, including 23 that were new to science (Ha, 2023). Morphological and molecular analyses further redefined the taxonomic boundaries of several genera, effectively resolving ambiguities in *Biasticus*, *Sphedanolestes*, and *Rhynocoris* (Ha, 2023). In addition, advanced genome-wide sequencing methods, such as MIG-seq (Multiplexed ISSR Genotyping by Sequencing), have unveiled significant genetic and morphological diversity within the *Gnamptogenys taivanensis* group and *Pheidole fervida* from Vietnam's northern mountains. These studies underscored the limitations of the mitochondrial COI gene for species discrimination, attributing inconsistencies to phenomena such as incomplete lineage sorting or introgressive hybridization (Nguyen, 2021; Nguyen *et al.*, 2020a). Moreover, our team has innovatively employed MIG-seq on museum specimens collected between 1992 and 2018, a breakthrough that enabled molecular analyses previously hindered by the constraints of traditional alpha taxonomy. This approach has opened new avenues for utilizing historical specimens in phylogenetic and population genetic studies (Eguchi *et al.*, 2020).

Our research group is committed to advancing taxonomic methodologies by adopting cutting-edge tools such as MinION sequencing, RAD-seq, and enhanced morphometric techniques. These innovations will enable more precise genetic structure analyses, robust phylogenetic studies, and greater insights into the evolutionary relationships among insect species. By continuously refining our approaches, we aim to contribute to the broader scientific understanding of biodiversity and support efforts to document and preserve the rich insect fauna of Vietnam and beyond.

2.3. Advances and contributions to the study of small mammals in Vietnam

The study of mammals in general, and small mammals in particular, in Vietnam has been conducted since the 19th century through surveys by Jean Delacour and Pierre Jabouille. In their papers and books on the fauna of Indochina, the authors documented and described the external morphology of several mammal species in the region, including small mammals, based on zoological collection (Delacour & Jabouille, 1931).

Alongside traditional methods, studies on mammals, especially small mammals, have recently applied innovative approaches and achievements. These include molecular biology techniques, ultrasound methods for bat research, and camera traps. In the future, the application of artificial intelligence and big data is expected to revolutionize this field. The incorporation of these new research methods has yielded numerous remarkable findings in the study of small mammals. Recent years have witnessed significant publications on the

molecular biology, phylogenetic evolution, ecology, and epidemiology of small mammal groups in Vietnam. Since 2008, nearly 30 new species and new records of small mammals have been discovered from the country, enriching the diversity of Vietnam's wild mammalian fauna, for examples, the Beelzebub's tube-nosed bat (*Murina beelzebub*) (Nguyen *et al.*, 2015), the Indochinese myotis (*Myotis indochinesis*) (Nguyen *et al.*, 2013), the Phu Quoc shrew (*Crocidura phuquocensis*) (Abramov *et al.*, 2008), the Laotian rock rat (*Laonastes aenigmamus*) (Nguyen *et al.*, 2012), and the Honkhoai squirrel (*Callosciurus honkhoaiensis*) (Fig. 2) (Nguyen *et al.*, 2018).

Figure 2. Honkhoai squirrel (*Callosciurus honkhoaiensis*), a new small mammal species described by Nguyen *et al.* (2018)

The research efforts of both national and international scientists on the Vietnam's fauna have highlighted the unique biodiversity of small mammals and promising new discoveries in the future. Furthermore, these studies play a crucial role in biodiversity exploration and conservation in Vietnam.

2.4. Innovative research and conservation efforts of plants in Vietnam

The young researchers in the Department of Botany of IEBR have advanced significantly through the integration of traditional and modern methods. Historically, research combined morphological analysis and molecular biology for species classification and phylogenetic studies, supported by extensive field surveys, herbarium specimen comparisons, and expert collaboration. Useful software like PAUP and CLUSTALX facilitated phylogenetic analysis. Currently, the department is pioneering projects on plant phylogenetics and evolution, with a focus on Lamiidae and Asclepiadaceae families. It also emphasizes biodiversity assessments, conservation initiatives in national parks, and medicinal plant cultivation, for example, *Desmodium sequax*, at Me Linh Biodiversity Station. Notable achievements include over 100 publications, 64 academic articles, and new species discovery, for examples, *Ceriscoides glabra* (Fig. 3), *Hoya sapaensis* and *Dregea taynguyenensis*. Furthermore, the department has secured international patents and published comprehensive botanical references. Looking forward, plans include expanding molecular biology applications, increasing global collaboration, and continuing the taxonomic classification of the Vietnam's flora to ensure its conservation and sustainable use.

3. CONCLUSION

The achievements of the Institute of Ecology and Biological Resources (IEBR) between 2019 and 2024 highlighted its steadfast commitment to advancing ecological and biological research, addressing critical real-world challenges, and driving sustainable solutions. Through innovative approaches that blend traditional knowledge with cutting-edge technologies, IEBR has made significant strides in sustainable agriculture, biodiversity conservation, and environmental management. As the Institute looks toward the future, its strategic focus on emerging fields such as genomic technologies, ecosystem restoration, and climate change adaptation will ensure it remains at the forefront of global scientific advancements. Furthermore, IEBR continues to prioritize the nurturing of the next generation of scientists, providing opportunities for impactful research that aligns with both national and global priorities. By fostering a culture of innovation, creativity, and inclusivity, IEBR will continue to be a leader in ecological and biological sciences, offering sustainable solutions for current and future challenges.

As members of the Youth Union of IEBR, we take great pride in contributing to the Institute's mission, advancing scientific research, regionally and globally, particularly in the fields of ecology, biodiversity, and natural conservation. From pioneering nematology studies to groundbreaking taxonomic revisions in insects, plants, and animal groups, we have embraced both traditional and modern methods to drive innovation and tackle complex scientific challenges. Our collective efforts have deepened the understanding of ecological systems and contributed to sustainable solutions for urgent environmental issues.

Through our work, we have demonstrated the power of collaboration, creativity, and dedication in scientific inquiry. By integrating advanced molecular tools, ecological modeling, and interdisciplinary approaches, we continue to play a vital role in shaping Vietnam's scientific orientation. Looking ahead, our commitment to exploring emerging fields such as genomic technologies, ecosystem restoration, and climate change adaptation will enhance our contribution to biodiversity conservation and sustainable development. In this era of global integration, the members of the Youth Union serve as a model of how young

scientists can contribute meaningfully to both national and international research efforts. Our achievements support the mission of IEBR and inspire the next generation of researchers to engage in science for the betterment of society and the environment. By nurturing talent and strengthening international collaborations, the Youth Union members are well-positioned to remain at the forefront of scientific advancement, driving innovation and sustainability for the future.

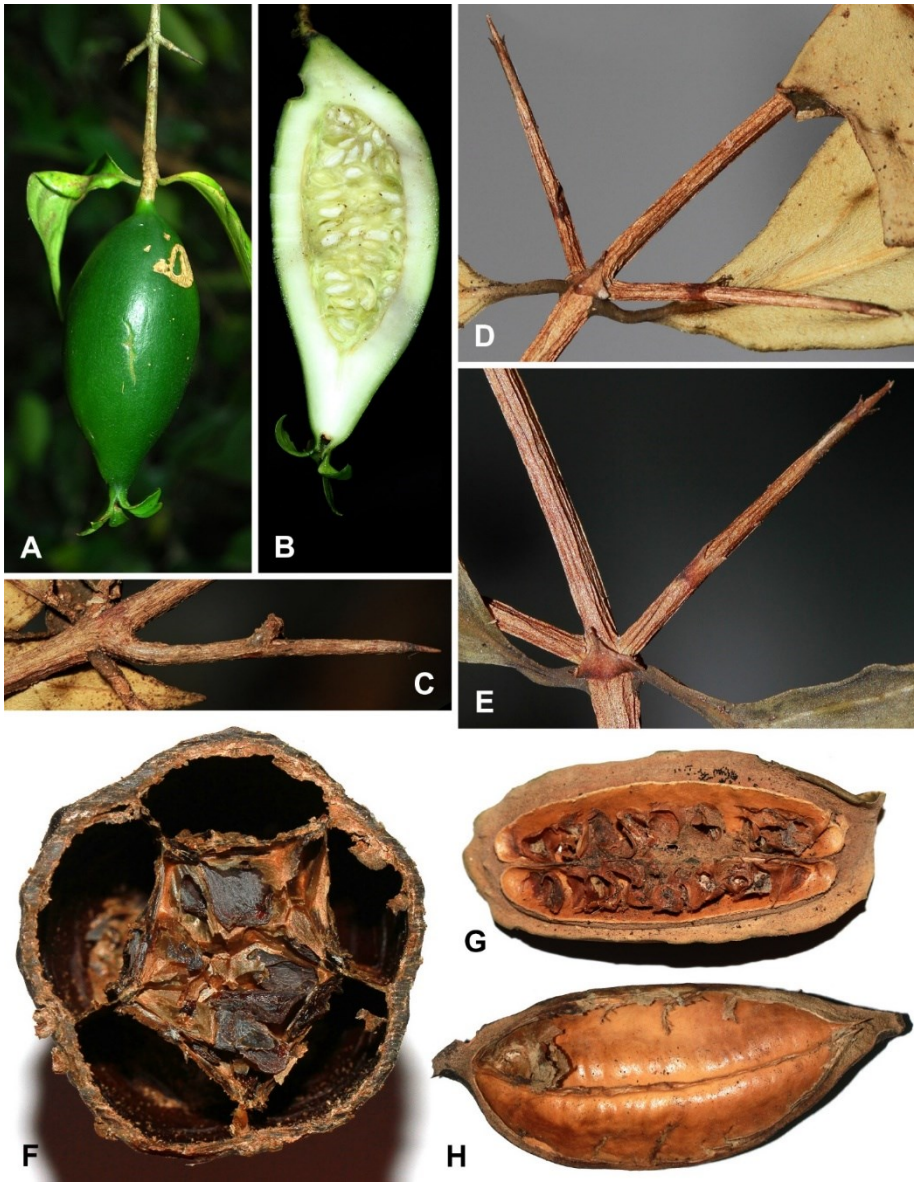


Figure 3. *Ceriscoides glabra*, a new plant species described by Tran *et al.* (2022)

REFERENCES

1. Abramov A. V., Jenkins P. D., Rozhnov V. V., Kalinin A. A. Description of a new species of *Crocidura* (Soricomorpha: Soricidae) from the island of Phu Quoc, Vietnam, *Mammalia*, **2008**, *72*, 269-272.
2. Bhat K. A., Mir R. A., Farooq A., Manzoor M., Hami A., Allie K. A., Wani S. M., Khan M., Sayyed R., Poczai P. Advances in nematode identification: A Journey from Fundamentals to evolutionary aspects, *Diversity*, **2022**, *14*, 536.

3. Dang V. A., Yamane S., Nguyen A. D., Eguchi K. New combination and redescription of *Brachyponera mesoponeroides* Radchenko, 1993 (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae), *Revue suisse de Zoologie*, **2020**, *125*, 221-229.

4. Delacour J., Jabouille P. Les oiseaux de l'Indochine française (Exposition Coloniale Internationale Paris 1931), **1931**.

5. Eguchi K., Oguri E., Sasaki T., Matsuo A., Nguyen D. D., Jaitrong W., Yahya B. E., Chen Z., Satria R., Wang W. Y. Revisiting museum collections in the genomic era: potential of MIG-seq for retrieving phylogenetic information from aged minute dry specimens of ants (Hymenoptera: Formicidae) and other small organisms, *Myrmecological News*, **2020**, 30.

6. Ha N. L. Species Delimitation in Assassin Bug Genera *Biasticus*, *Rhynocoris*, and *Sphedanolestes* (Hemiptera: Heteroptera: Reduviidae) Known from Vietnam and Surrounding Areas. Ph.D. Thesis, Tokyo Metropolitan University, Tokyo, Japan, **2023**.

7. Ha N. L., Truong X. L., Ishikawa T., Jaitrong W., Lee C. F., Chouangthavy B., Eguchi K. 2022. Three new species of the genus *Biasticus* Stål, 1867 (Insecta, Heteroptera, Reduviidae, Harpactorinae) from Central Highlands, Vietnam, *ZooKeys*, **2022**, *1118*, 133.

8. Le T. M. L., Nguyen T. D., Nguyen H. T., Liebanas G., Nguyen T. a. D. Trinh Q. P. A new root-knot nematode, *Meloidogyne moensi* n. sp. (Nematoda: Meloidogynidae), parasitizing Robusta coffee from Western Highlands, Vietnam. Helminthologia, **2019**, *56*, 229-246.

9. Nguyen D. D. Genetic and Species diversity of three ant groups (Hymenoptera: Formicidae) in the Northern Mountain region of Vietnam. Ph.D. Thesis, Tokyo Metropolitan University, Tokyo, Japan, **2021**.

10. Nguyen D. D., Oguri E., Yamada A., Li C. C., Zhilin C., Nguyen A. D., Suyama Y., Eguch, K. Genome-wide MIG-seq and morphometric data reveals heterospecificity of the *Gnamptogenys taivanensis* group (Hymenoptera: Formicidae: Ectatomminae) in the northern mountainous region of Vietnam. Raffles Bulletin of Zoology, **2020a**, *68*, 539-555.

11. Nguyen H., Nguyen T., Le T., Trinh Q. Method for taking Scanning Electron Microscope photographs of nematodes and meiofauna with the support of a low-cost and easy-made container. Helminthologia, **2023**, *60*, 393-396.

12. Nguyen N. C., Nguyen V. T. Fauna of Vietnam, Plant-parasitic nematodes (in Vietnamese). Hanoi, Vietnam: Science and Technics Publishing House, **2000**.

13. Nguyen S. T., Oshida T., Dang P. H., Bui H. T., Motokawa M. A new species of squirrel (Sciuridae: Callosciurus) from an isolated island off the Indochina Peninsula in southern Vietnam, *Journal of Mammalogy*, **2018**, *99*, 813-825.

14. Nguyen T. D., Le T. M. L., Nguyen H. T., Trinh Q. P. The Evaluation of Fungal *Metarhizium anisopliae* to Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita* in The Laboratory Cond, Tạp chí Bảo vệ thực vật, **2024**, *1*, 27-31.

15. Nguyen T. D., Nguyen H. T., Le T. M. L., Trinh Q. P. Effects of *Paecilomyces* sp. to *Meloidogyne incognita* and *Pratylenchus penetrans* in laboratory conditions. The 19th National conference of phytopathological society of Vietnam, **2020b**, 189-199.

16. Nguyen T. S., Csorba G., Tu V. T., Vu D. T., Wu Y., Harada M., Oshida T., Endo H., Motokawa M. A new species of the genus *Murina* (Chiroptera: Vespertilionidae) from the Central Highlands of Vietnam with a review of the subfamily Murininae in Vietnam. Acta Chiropterologica, **2015**, *17*, 201-232.

17. Nguyen T. S., Görföl T., Franci C. M., Motokawa M., Estók P., Endo H., Vu D. T., Nguyen X. D., Oshida T., Csorba G. Description of a new species of *Myotis* (Vespertilionidae) from Vietnam, *Acta Chiropterologica*, **2013**, *15*, 473-483.

18. Nguyen X. D., Nguyen X. N., Nguyen M. H., Nguyen D. L., Dinh H. T. The first record of living "Fossil" species (*Laonestes aenigmanus*) in Phong Nha - Ke Bang, Quang Binh province, Vietnam, *Academia Journal of Biology*, **2012**, *34*, 40-47.

19. Palomares-Rius J. E., Cantalapiedra-Navarrete C., Castillo P. Cryptic species in plant-parasitic nematodes, *Nematology*, **2014**, *16*, 1105-1118.

20. Peham T., Steiner F. M., Schlick-Steiner B. C., Arthofer W. Are we ready to detect nematode diversity by next generation sequencing? *Ecology and Evolution*, **2017**, *7*, 4147-4151.

21. Perry R., Moens M. Plant nematology. London, UK: CABI International, **2013**.

22. Pham P. V., Ahrens D. The genus *Dedalopterus* Sabatinelli & Pontuale, 1998 (Scarabaeidae: Melolonthinae: Leucopholini) in Laos and Vietnam, with description of a new species. *Zootaxa*, **2024**, *5406*, 141-152.

23. Pham P. V., Pham N. T. A remarkable new species of the genus *Macronotops* Krikken, 1977 (Coleoptera: Scarabaeidae: Cetoniinae) from Vietnam, *Zootaxa*, **2021**, *5039*, 593-598.

24. Pham V. P., Keith D., Pham T. N., Cao N. Q. T. Three new species of the genus *Miridiba* Reitter, 1902 (Scarabaeidae: Melolonthinae) from Vietnam along with a new country record, *Zootaxa*, **2022**, *5205*, 331-342.

25. Tran D. B., Bui H. Q., Ha Q. Q., Duong T. H., Do V. H., Nguyen K. S., Nuraliev M. S. *Ceriscoides glabra* (Gardenieae: Rubiaceae), a new species from Kon Chu Rang Nature Reserve, southern Vietnam, *Phytotaxa*, **2022**, *574*, 158-164.

26. Tran N. T., Engel M. S., Nguyen C. Q., Tran D. D., Nguyen L. T. P. The bee genus *Anthidiellum* in Vietnam: descriptions of five new species and the first male of *Anthidiellumcoronum* (Hymenoptera, Megachilidae), *ZooKeys*, **2023**, *1144*, 171.

27. Tran N. T., Engel M. S., Nguyen L. T. P. A new species of *Habrophorula* from Vietnam and an updated key to species of the genus (Hymenoptera, Apidae), *ZooKeys*, **2024**, *1197*, 261.

28. Trinh Q. P., Le T. M. L., Nguyen T. D., Nguyen H. T., Liebanas G., Nguyen T. A. D. *Meloidogyne daklakensis* n. sp. (Nematoda: Meloidogynidae), a new root-knot nematode associated with Robusta coffee *(Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) in the Western Highlands, Vietnam, *Journal of Helminthology*, **2018**, *93*, 242-254.

Corresponding author: **Huu Tien Nguyen**
Institute of Ecology and Biological Resources
Vietnam Academy of Sciences and Technology
18, Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam
Email: tien.quelampb@gmail.com.

MỘT SỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU NỔI BẬT VỀ HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC TỪ SINH VẬT BIỂN VIỆT NAM Ở VIỆN HÓA SINH BIỂN GIAI ĐOẠN 2020-2025

Phạm Văn Cường*, Đoàn Thị Mai Hương, Nguyễn Xuân Cường, Nguyễn Hoài Nam, Nguyễn Văn Thanh, Nguyễn Thị Minh Hằng, Lê Thị Hồng Minh, Trần Hồng Quang, Bùi Hữu Tài, Nguyễn Xuân Nhiệm, Phan Văn Kiệm, Châu Văn Minh

Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày gửi bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

Giai đoạn 2020-2025, với sự hỗ trợ của các trang thiết bị hiện đại, nghiên cứu hóa học các hợp chất thiên nhiên biển được thực hiện bài bản trên sáu nhóm đối tượng sinh vật biển, gồm có hải miên, san hô mềm, động vật da gai, động vật thân mềm, vi sinh vật biển và vi tảo biển. Kết quả nghiên cứu đã phát hiện khoảng 100 hợp chất có cấu trúc hóa học mới. Tính mới của các hợp chất không chỉ ở các nhóm thế mà còn thể hiện ở bộ khung carbon mới. Cấu hình tuyệt đối của các hợp chất được giải quyết triệt để bằng các phương pháp tiên tiến như ECD, X-ray và tính toán dữ liệu phổ NMR và ECD. Các kết quả góp phần khẳng định tiềm năng về nguồn dược liệu biển của nước ta và nâng tầm nghiên cứu về hợp chất thiên nhiên biển của Việt Nam trên bản đồ thế giới.

1. GIỚI THIỆU CHUNG

Hợp chất thiên nhiên luôn được coi là cơ sở dữ liệu phong phú, hiệu quả trong lĩnh vực nghiên cứu và phát triển thuốc mới. Trong đó, Hợp chất thiên nhiên biển được đánh giá vô cùng đa dạng với sự phát hiện một số lượng lớn các hợp chất có khung carbon mới, hợp chất có dược tính mạnh (diệt tế bào ung thư, kháng sinh, chống viêm, giảm đau, kháng virus,…). Các hợp chất này đóng vai trò quan trọng trong hành trình nghiên cứu và phát triển thuốc.[1] Nghiên cứu về hợp chất thiên nhiên biển trên thế giới được đánh dấu từ năm 1900, khi hoạt chất kainic acid ở rong biển được phát hiện và thương mại hóa trở thành thuốc trừ giun sán, diệt sâu bọ. Các nghiên cứu về hợp chất thiên nhiên biển đã nhận được sự quan tâm đặc biệt bởi các nhà khoa học trên thế giới. Kết quả nhận được sau đó là sự xuất hiện của các loại thuốc mới được Cục Quản lý Thuốc và Thực phẩm Hoa Kỳ cũng như cộng đồng các nước châu Âu cấp phép lưu hành cho đến nay như: spongothymidine và spongouridine (nguồn gốc từ hải miên, phát hiện năm 1950 và được cấp phép với tên thương mại cytrabine năm 1969 và vidrabine năm 1976 có tác dụng chống ung thư), thuốc ziconitide (có nguồn gốc từ ốc biển được cấp phép năm 2004, với tác dụng chống viêm, giảm đau), thuốc trabectedin (có nguồn gốc từ loài mực biển *Ecteinascidia turbinata*, được cấp phép năm 2007 với tác dụng chống ung thư), ethyl ester của acid béo omega-3 (với tác dụng hạ mỡ máu), thuốc Eribulin Mesylate (có nguồn gốc từ hải miên, được cấp phép năm 2010 với tác dụng chống ung thư), hay Brentunimab Vedotin (có nguồn gốc từ sên biển và xạ khuẩn biển được cấp phép năm 2011 với tác dụng chống ung thư).[2] Tuy vậy, từ trước những năm 1985, việc nghiên cứu các chất có hoạt tính sinh học từ sinh vật biển trên thế giới cũng gặp nhiều khó khăn trong phương tiện thu mẫu, cũng như trang thiết bị nghiên cứu, điều này được thể hiện ở việc công bố phân lập các hợp chất từ sinh vật biển vào thời điểm này chưa đến con số 200 hợp chất trong một năm (bao gồm cả chất mới, chất có hoạt tính sinh học và không có hoạt tính sinh học).[3] Những năm sau đó khi các phương tiện nghiên cứu như tàu nghiên cứu biển, tàu lặn, các trang thiết bị khoa học hiện đại phát triển, số lượng các hợp chất mới hằng năm phát hiện từ sinh

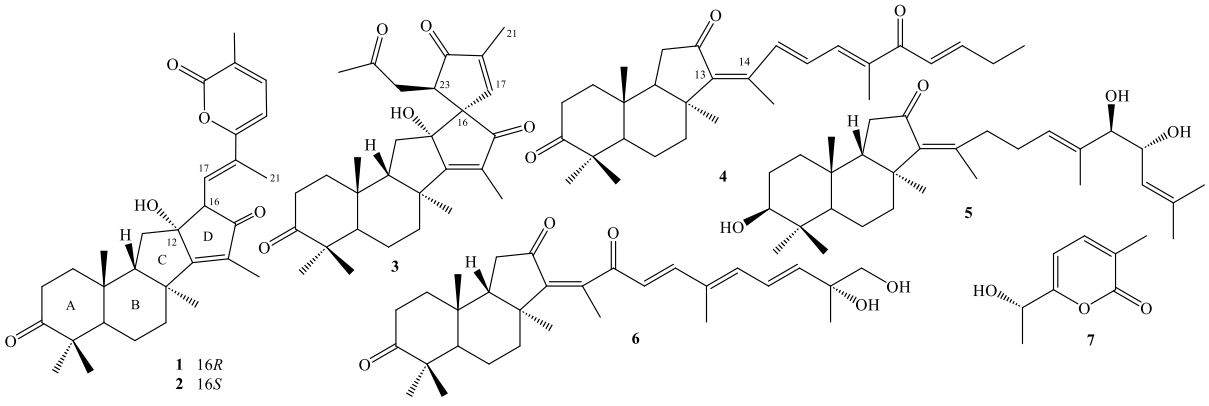
vật biển đã tăng trưởng bùng nổ. Những năm gần đây, trung bình mỗi năm đã có trên 1.000 hợp chất mới phát hiện được từ các sinh vật biển. Trong hai năm 2021 và 2022, các nhà khoa học trên thế giới đã công bố phát hiện lần lượt là 1.425 và 1.417 hợp chất mới từ sinh vật biển. Thống kế trong 5 năm, 2017-2021, 10 quốc gia đi đầu trong nghiên cứu về hợp chất thiên nhiên biển bao gồm: Trung Quốc, Hoa Kỳ, Nhật Bản, Hàn Quốc, Ấn Độ, Đức, Nga, Úc, Pháp và Tây Ban Nha. Trong đó, Trung Quốc được thống kê là nước có nhiều nghiên cứu nhất, với gần một nửa số lượng các công bố đến từ các tác giả Trung Quốc (1.116 công bố trong tổng số 2.261 công bố trên toàn thế giới).[4,5] Các nhóm đối tượng được nghiên cứu bao gồm: vi sinh vật biển (vi khuẩn, xạ khuẩn, vi nấm, trùng roi), các loại tảo/rong biển (tảo xanh, tảo nâu, tảo đỏ), hải miên, hải tiêu, san hô, sên biển, ốc biển, động vật da gai và thực vật ven biển.

Việt Nam là một quốc gia trong danh sách 10 nước trên thế giới có chỉ số cao nhất về đường bờ biển dài, mở ra cả 3 hướng Đông, Nam và Tây. Theo Công ước Luật biển Liên hợp quốc năm 1982, Việt Nam có hơn 4.200 km^2 biển nội thủy, có vùng lãnh hải, vùng đặc quyền kinh tế, thềm lục địa trải dài rộng khoảng 1 triệu km^2, gấp ba lần diện tích đất liền, có gần 3.000 đảo lớn nhỏ phân bố tập trung ở vùng biển thềm lục địa và hai quần đảo ngoài khơi là Hoàng Sa và Trường Sa. Với điều kiện tự nhiên đó, dược liệu biển ở nước ta vô cùng đa dạng và hứa hẹn mang lại nguồn lợi lớn. Tuy vậy, các nghiên cứu theo hướng đa dạng sinh học và các hợp chất có hoạt tính sinh học từ dược liệu biển ở nước ta khá hạn chế. Có thể khẳng định rằng: nghiên cứu về thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính sinh học từ nguồn dược liệu biển ở Việt Nam cho đến nay được thực hiện với quy mô nhất bởi nhóm tác giả thuộc Viện Hóa sinh biển. Các kết quả nghiên cứu được tóm lược trong hai giai đoạn chính: từ năm 2012 trở về trước và giai đoạn từ 2013 đến nay. Các nghiên cứu được bắt đầu thông qua việc các đề tài nghiên cứu cấp Nhà nước KC09.15 (2003-2005), KC09.09/06-10 (2006-2008), nghiên cứu cơ bản định hướng ứng dụng (2011-2014) về dược liệu biển, nhóm nghiên cứu đã phát hiện ra hàng loạt các hợp chất mới, các hợp chất có hoạt tính sinh học và bước đầu khẳng định tiềm năng nguồn lợi từ sinh vật biển Việt Nam. Trong giai đoạn này, nhóm nghiên cứu mới tập trung nghiên cứu và đánh giá vào ba nhóm đối tượng sinh vật biển chính là nhóm hải miên (sponge), nhóm san hô mềm (soft coral) và nhóm da gai (echinoderm). Các nghiên cứu ở giai đoạn này đã phát hiện ra khoảng 100 hợp chất khác nhau thuộc các nhóm chất như saponin, steroid, diterpene, glycospingolipid và bước đầu xác định được các nhóm hợp chất chính cho mỗi nhóm sinh vật biển như nhóm hợp chất saponin từ da gai, nhóm sesquiterpen ở hải miên và nhóm cembranoid diterpene từ san hô mềm.[6] Điển hình nhất là phân lập, xác định cấu trúc hóa học và phát triển các hợp chất holostane saponin từ hải sâm (như holothurin A và holothurin B) trở thành sản phẩm bảo vệ sức khỏe. Giai đoạn từ năm 2013 cho đến nay, nhóm tác giả Viện Hóa sinh biển tiếp tục mở rộng nghiên cứu tiềm năng về dược liệu biển ở một số vùng biển của Việt Nam như vùng biển khu vực Đông Bắc Bộ, vùng biển khu vực từ Bắc Trung Bộ tới Trung Trung Bộ và vùng biển khu vực Nam Trung Bộ. Trong giai đoạn này, ngoài 3 nhóm đối tượng sinh vật biển kể trên (hải miên, san hô mềm và da gai), nhóm nghiên cứu đã mở rộng thêm các nhóm sinh vật biển khác gồm động vật thân mềm (ốc biển và sên biển, thỏ biển), vi sinh vật biển, vi tảo biển và thực vật ven biển. Trên 500 hợp chất (hơn 100 hợp chất mới) tiếp tục được phát hiện ra từ sinh vật biển và thực vật ven biển của Việt Nam. [7] Nhiều hợp chất trong đó mang khung carbon mới đã được phát hiện và nhấn mạnh về giá trị về thành phần hóa học của dược liệu biển ở nước ta. Bên cạnh đó, các hợp chất phân lập cũng được đánh giá tác dụng gây độc tế bào ung thư, kháng viêm, kháng vi sinh vật kiểm định và kháng lao. Các nghiên cứu này góp phần khẳng định nghiên cứu về hợp chất thiên nhiên biển của Việt Nam trên bản đồ thế giới, được thống kê thuộc nhóm 10 nước có số lượng công bố nhiều nhất về hợp chất thiên nhiên biển trong giai đoạn 2017-2021.[4]

2. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

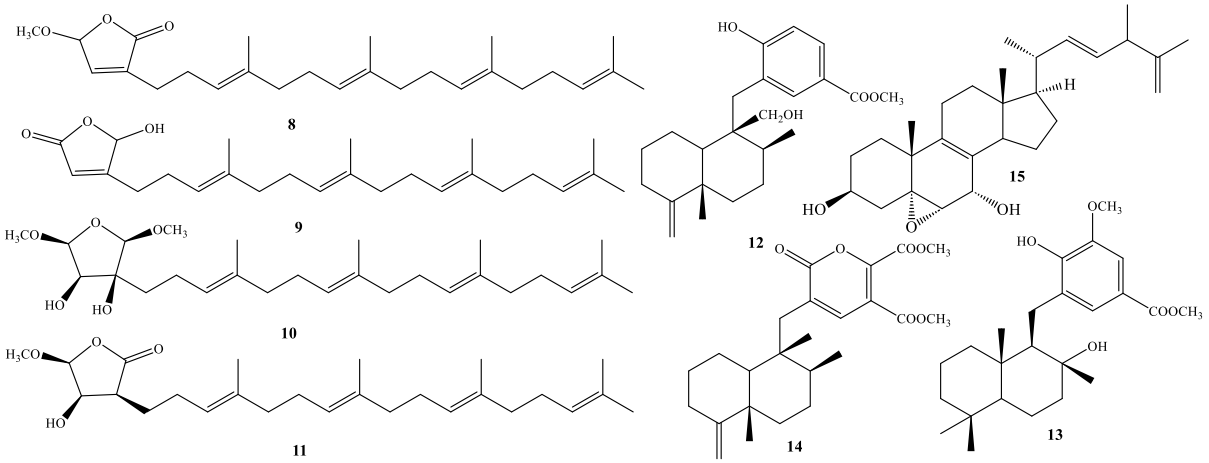
2.1. Một số kết quả nổi bật về hóa học, hoạt tính sinh học từ các loài hải miên

Tiếp tục nghiên cứu về hóa học và hoạt tính sinh học của hải miên giống *Rhabdastrella*, từ loài *R. globostellata* thu ở vịnh Vân Phong, Khánh Hòa, nhóm nghiên cứu đã phát hiện bảy hợp chất mới (**1**-**7**).[8-10] Thành phần hóa học đặc trưng cho loài *R. globostellata* là các hợp chất nhóm isomalabaricane triterpene. Nhóm hợp chất này có cấu trúc hóa học bao gồm một hệ ba vòng ngưng tụ dạng 6,6,5-*trans*,*syn*,*trans* và phần nhánh với sự đa dạng về hóa lập thể của các liên kết đôi, trung tâm bất đối và vòng phụ. Điều đặc biệt trong thành phần hóa học của loài *R. globostellata* là sự phát hiện ra ba hợp chất isomalabaricane (**1**-**3**) với khung carbon mới, có cấu trúc lên tới hệ bốn và năm vòng.[8] Quá trình hình thành đa vòng được giả thiết bởi sự đóng vòng C-C giữa C-12 và C-16, giữa C-16 và C-23 của các hợp chất isomalabaricane. Sự đa vòng hóa ở các hợp chất **1**-**3** đã hình thành bổ sung thêm các trung tâm lập thể và xuất hiện các đồng phân lập thể với cấu trúc phức tạp. Cấu hình tuyệt đối của các hợp chất **1**-**3** được biện giải dựa trên phân tích kết hợp giữa phổ NMR, phổ ECD trong thực nghiệm và tính toán lý thuyết các số liệu phổ tương ứng theo mô hình hóa lượng tử trên phần mềm bản quyền Spartan18 và Gaussian16. Dựa trên các tương tác trên phổ hai chiều HMBC và HSQC, cấu trúc bốn vòng (ở hợp chất **1** và **2**) và cấu trúc năm vòng (ở hợp chất **3**) lần lượt được thiết lập. Để hình thành cấu trúc vòng thứ tư, trong hợp chất **1**-**3** có sự đóng vòng trực tiếp giữa C-12 và C-16. Quá trình vòng hóa này xuất hiện hai trung tâm lập thể là nhóm hydroxy tại C-12 và trung tâm bất đối C-16. Trong đó, cấu hình tương đối tại C-16 có thể được xác định dựa trên tương tác NOESY giữa H-9 và H-16 (hoặc H-23 ở hợp chất **3**) hoặc H-6 và H-17. Tuy nhiên, nhóm hydroxy tại C-12 khó kết luận về hóa lập thể nếu chỉ phân tích trên phổ NOESY. Để xác định, cấu trúc 3D của các hợp chất được xây dựng, tối ưu hóa cấu dạng và cấu hình và tính toán khoảng cách giữa H-9 và H-16 cũng như khoảng cách giữa H-9 và H-17 trong cả hai trường hợp nhóm hydroxy tại C-12 có cấu hình alpha hay beta.

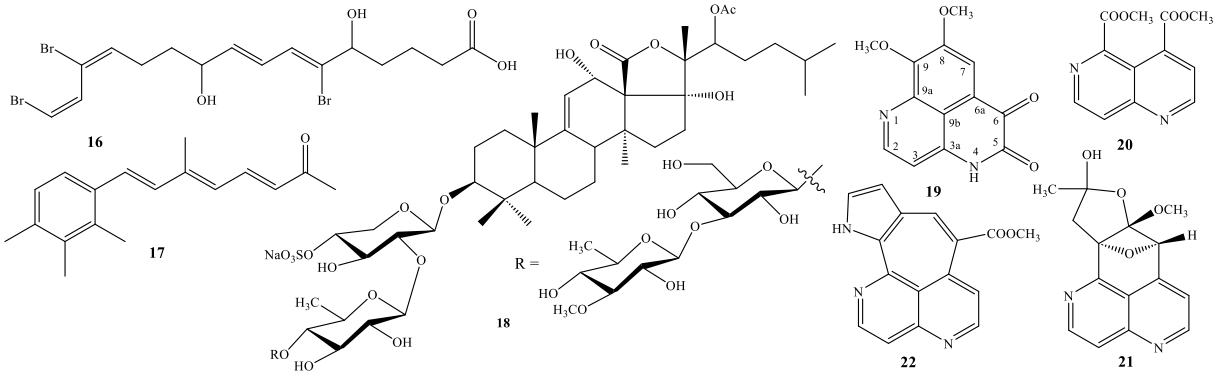


Kết quả tính toán trên các cấu trúc sau khi được tối ưu hóa năng lượng bằng phần mềm Spartan18 (theo MMFF và PM3) và Gaussian16 (theo DFT với hàm tính toán B3LYP/6-31G(d,p) và ảnh hưởng của dung môi tương tự với dung môi phân tích phổ) cho thấy trong trường hợp nhóm hydroxy tại C-12 có cấu hình alpha thì khoảng cách giữa H-9 và H-16 cũng như H-9 và H-17 trong khoảng 2.502-3.067 Å (có khả năng xuất hiện tương tác NOESY). Trong khi đó, với trường hợp nhóm hydroxy tại C-12 có cấu hình beta thì khoảng cách giữa các proton này trong khoảng 4.505-4.726 Å (không có khả năng xuất hiện tương tác NOESY). Với việc xuất hiện các tương tác NOESY giữa H-9 và H-16 cũng như H-9 và H-17 đã cho phép kết luận nhóm hydroxy tại C-12 có cấu hình alpha. Ở hợp chất **3**, với cấu trúc năm vòng, vòng thứ năm được hình thành bởi sự đóng vòng trực tiếp giữa C-16 và C-23, hợp chất này xuất hiện thêm trung tâm lập thể tại C-23. Do cấu trúc vòng xoắn (spiro) tại C-16 và sự thiếu vắng các proton liền kề, các tín hiệu trên phổ NOESY không đủ kết luận về hóa lập thể tương đối tại C-23. Do đó, để xác định hóa lập thể tại vị trí carbon này, phương pháp so sánh phổ

NMR thực nghiệm với phổ NMR tính toán theo lý thuyết GIAO (với hàm sóng tính toán WB97XD/6-31G*) đối với cả hai dạng lập thể tương đối alpha và beta tại C-23. Áp dụng mô hình phân tích STS (sorted training set), các kết quả so sánh giữa số liệu NMR thực nghiệm và số liệu NMR tính toán GIAO đã cho thấy hóa lập thể tại C-23 của hợp chất **3** có cấu hình tương đối beta. Cuối cùng, cấu hình tuyệt đối ở các trung tâm lập thể của hợp chất **1-3** được qui kết bằng phân tích phổ ECD của các hợp chất này kết hợp với tính toán lý thuyết phổ ECD theo TD-DFT (với hàm tính toán B3LYP/6-31G(d,p) và/hoặc CAM-B3LYP/6-31G(d,p), WB97XD/6-31G(d,p).[8] Bên cạnh đó, hai hợp chất isomalabaricane khác là **5** và **6** lại có hai trung tâm lập thể dạng 1,2-diol ở phần mạch nhánh, rất khó xác định được cấu hình tuyệt đối bằng các phương pháp thường quy. Ở đây, cấu hình tuyệt đối của cấu trúc 1,2-diol đã được xác định dựa trên phân tích sự biến đổi phổ lưỡng sắc tròn của chúng gây ra bởi quá trình tạo phức với molybdenum acetate.[9] Giống với các nghiên cứu trước đây, các hợp chất isomalabaricane đều thể hiện tác dụng gây độc tế bào trên các dòng tế bào ung thư thử nghiệm (LU-1, HepG2, MCF7 và SK-Mel-2). Trong đó, sự xuất hiện thêm vòng năm cạnh ở hợp chất **3** làm giảm hoạt tính. Đồng thời, hợp chất isomalabaricane có cấu hình 13*Z* thể hiện hoạt tính mạnh hơn so với đồng phân 13*E*. Nghiên cứu về loài hải miên *Hippospongia fistulosa*[11-13] cũng phát hiện các hợp chất mới thuộc nhóm sesterterpene (**8-11**) và merosesquiterpene (**12**, **13**, và **14**). Trong đó, các sesterterpene có bộ khung carbon ở dạng mạch thẳng, thuộc nhóm hợp chất hay gặp trong thành phần hóa học của hải miên. Tuy vậy, tính mới về cấu trúc trong các hợp chất này thể hiện bởi sự đa hydroxy hóa và methoxy hóa trên phần cấu trúc furano của các sesterterpene này.[11] Các merosesquiterpene xác định được cũng thuộc nhóm cấu trúc đại diện của hải miên. Sự biến đổi về cấu trúc ở hợp phần phenol và quinone trong cấu trúc merosesquiterpene là điểm mới cho các hợp chất này. Hợp chất **8** thể hiện tác dụng gây độc yếu trên dòng tế bào MCF7 trong khi các hợp chất **9-14** không thể hiện hoạt tính gây độc đối với các dòng tế bào thử nghiệm. Nghiên cứu hóa học các loài hải miên *Halichondria panicea*,[14] *Xestospongea testudinaria*,[15] *Clathria (Thalysias) reinwardti*,[16] và *Ianthella basta*[17] cũng lần lượt phát hiện bốn hợp chất mới (**15**, **16**, **17**, **18**) tương ứng với bốn loài hải miên nghiên cứu. Trong đó, từ loài *Clathria (Thalysias) reinwardti* phát hiện hợp chất mới dạng ketone không bão hòa liên hợp (**17**). Hợp chất này được giải thích hình thành từ quá trình oxy hóa của các hợp chất carotenoid chẳng hạn như astaxanthin, *β*-carotene, *χ,χ*-carotene, là những hợp chất thể hiện màu đỏ rất đặc trưng cho loài hải miên này, hải miên đỏ *Clathria (Thalysias) reinwardti*,[16,18] Loài *Xestospongea testudinaria* giàu các hợp chất acid béo không no chứa nguyên tử brom, giống với hợp chất **16**. Sự có mặt của nguyên tử brom trong phân tử được xác nhận bằng phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS với sự xuất hiện của các pic ion giả phân tử tương ứng với sự có mặt của các ion mang đồng vị ^{79}Br và ^{81}Br, theo tỉ lệ tương đối trong tự nhiên là 1:1.



Bên cạnh sự có mặt của các liên kết đôi và liên kết ba, trong phân tử các hợp chất này còn có thêm các nhóm thế hydroxy ở giữa mạch, hình thành thêm các trung tâm lập thể. Tuy nhiên, cũng giống với các nghiên cứu trước đây, nhóm dẫn xuất acid béo chứa brom trong loài *X. testudinaria* chủ yếu tồn tại dưới dạng biến thể racemic.[15] Điểm thú vị khi nghiên cứu hóa học loài hải miên *Ianthella basta* là phát hiện ra nhóm hợp chất holostane saponin như hợp chất **18**,[17] là nhóm hợp chất chủ yếu phát hiện có trong các loài da gai mà phổ biến và đặc trưng nhất là hải sâm. Đây là lần đầu tiên phát hiện ra nhóm hợp chất này có trong hải miên. Do vậy, sự có mặt của nhóm hợp chất này trong loài hải miên *I. basta* được khẳng định lại bằng phân tích định tính và định lượng LC-HR-MS. Trong số các hợp chất **15-18**, hợp chất sterol **15** gây độc các dòng tế bào LU-1, MCF-7, HepG2, SK-Mel2 với giá trị IC_{50} lần lượt là 15,45 µM, 10,85 µM, 9,27 µM và 11,34 µM. Nghiên cứu thành phần hóa học loài hải miên *Aaptos aaptos* [19,20] đã phát hiện nhóm hợp chất aaptamine alkaloid với bốn hợp chất mới (**19-22**), một nhóm hợp chất đặc trưng của giống hải miên *Aaptos* và được lấy tên thường gọi dựa trên tên của giống hải miên này.[19]



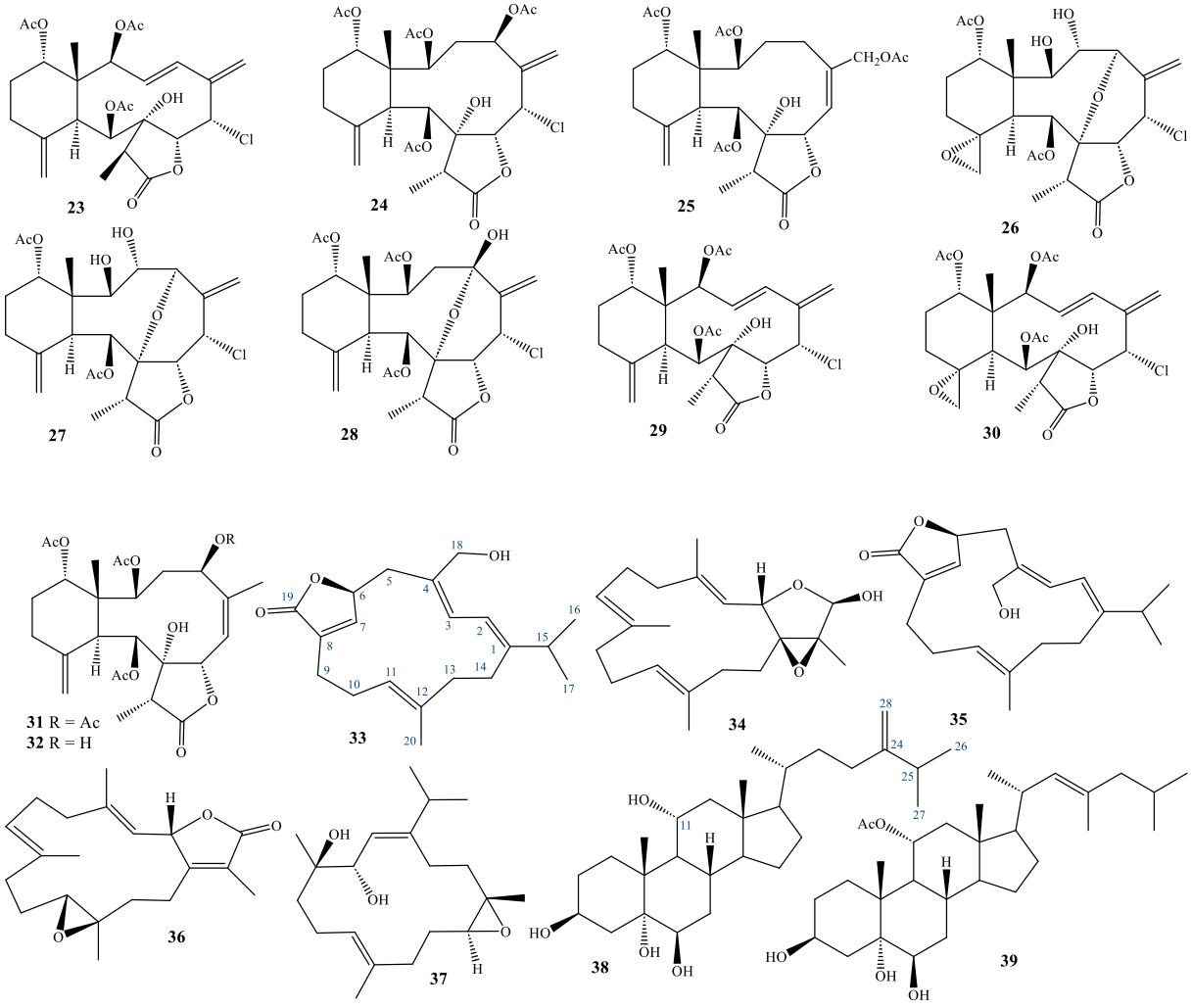
Mặc dù đều mang khung carbon cơ sở 1,6-naphthyridine, nhưng tính mới trên cấu trúc hóa học của các hợp chất **19-22** cũng rất khác nhau. Hợp chất **19** có nhân 1,6-naphthyridine bị keton hóa tại các vị trí C-2, C-3 hoặc C-5, C-6. Hợp chất **20** lại bị oxi hóa cắt mạch, làm phá vỡ vòng ngưng tụ liên kết với nhân 1,6-naphthyridine tạo nên cấu trúc aaptamine alkaloid thường gặp (hệ 3 vòng). Trong khi đó ở hợp chất **21** và **22** thì lại có cấu trúc nhiều hơn ba vòng. Hợp chất **21** có sự hiện diện của vòng furan và xuất hiện thêm một cầu epoxy nội phân tử khác giữa C-7 và C-9. Trong khi đó, hợp chất **22** có sự thay thế hệ 3 vòng 6/6/6 của aaptamine alkaloid thành hệ 3 vòng 6/6/7 đồng thời xuất hiện thêm một vòng pyrrole. Sự mở rộng vòng và đa vòng hóa ở các hợp chất **21** và **22** cho thấy xuất hiện thêm một nhóm cấu trúc khung carbon mới của các hợp chất apptamine alkaloid. Các hợp chất **18-22** đều thể hiện tác dụng gây độc tế bào ung thư thử nghiệm (LU-1, MCF-7, HepG2, và SK-Mel2) với giá trị IC_{50} trong khoảng từ 9,4 µM đến 49,2 µM. Nhận xét về tương quan giữa cấu trúc hóa học các aaptamine alkaloid và hoạt tính gây độc tế bào ung thư có thể thấy rằng sự ketone hóa tại các vị trí C-2, C-3, C-5 hoặc C-6 trong nhân 1,6-naphthyridine làm giảm hoạt tính của các aaptamine alkaloid phân lập được.

2.2. Một số kết quả nổi bật về hóa học, hoạt tính sinh học từ các loài san hô mềm

Nghiên cứu các loài san hô tiếp tục nhận được các nhóm hợp chất mới, nổi bật bao gồm briarane-type diterpene, cembrane-type diterpene, và polyhydroxyl steroid. Từ loài san hô mềm *Junceella fragilis*,[21] đã phát hiện được mười hợp chất thuộc nhóm brianrane-type diterpene (**23-32**).

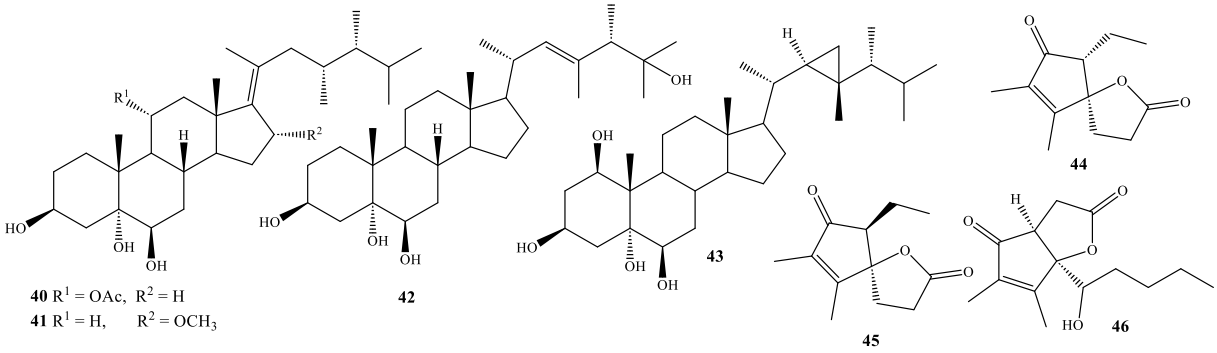
Bên cạnh bộ khung carbon nhóm brianrane, các hợp chất này còn được đặc trưng bởi sự xuất hiện của vòng lacton (hình thành giữa C-19 và C-7), sự đa nhóm thế (acetyl hóa, hydroxy hóa, và epoxy hóa) tại các vị trí như C-2, C-3, C-4, C-8, C-9, C-11, C-14, C-16, và C-20. Một

số hợp chất còn có sự xuất hiện của nhóm thế là nguyên tử clo (như hợp chất **23**, **24**, **26**-**30**), được khẳng định bằng phân tích khối phổ phân giải cao với sự xuất hiện của các pic ion đồng vị ^{35}Cl và ^{37}Cl. Quá trình đa nhóm thế này nhiều trung tâm lập thể khác nhau trên khung cấu trúc phân tử các hợp chất. Tuy vậy, sự tương đồng về các dữ liệu phổ NMR khi phân tích cùng dung môi đo, cũng như sự tương đồng về chiều hướng hấp thụ Cotton trên phổ ECD của các hợp chất so với các công bố trước đây cho phép quy kết cấu hình tuyệt đối của các hợp chất. [21] Trong số đó, hợp chất **23**, 17-epi-junceellolide B, được xác định là hợp chất mới, đây là một đồng phân cấu hình tại C-17 của hợp chất junceellolide B (**29**). Đánh giá tác dụng gây độc tế bào ung thư cho thấy chỉ có hợp chất **29** thể hiện tác dụng gây độc yếu với dòng tế bào LNCaP (IC_{50} = 85,34 μM) trong khi các hợp chất briarane-type diterpene còn lại không thể hiện hoạt tính đối với tám dòng tế bào ung thư thử nghiệm (LNCaP, HepG2, KB, MCF-7, SK-Mel2, HL-60, LU-1 và SW480). Ở nghiên cứu về loài san hô mềm *Sarcophyton ehrenbergi*,[22,23] năm hợp chất cembrane-type diterpene (**33**-**37**) và mười bốn hợp chất polyhydroxy steroid đã được phát hiện. Trong số đó, có tám hợp chất mới bao gồm hai hợp chất cembranoid (**33** và **34**) và sáu hợp chất steroid (**38**-**43**).



Cembranoid là nhóm hợp chất đặc trưng, điển hình của các loài san hô mềm. Có thể nhận định rằng, cembranoid là khung carbon cơ sở, sự xuất hiện của các nhóm khung carbon diterpene khác được hình thành trên cơ sở của các cembranoid. Chẳng hạn như nhóm briarane-type diterpene, phát hiện được ở loài *Junceella fragilis*, được hình thành trên cơ sở đóng vòng giữa C-3 và C-8 của khung cembranoid. Hai hợp chất cembranoid mới (**33** và **34**) được xác định bởi sự khác biệt về các nhóm thế hay cấu hình của liên kết đôi trên khung

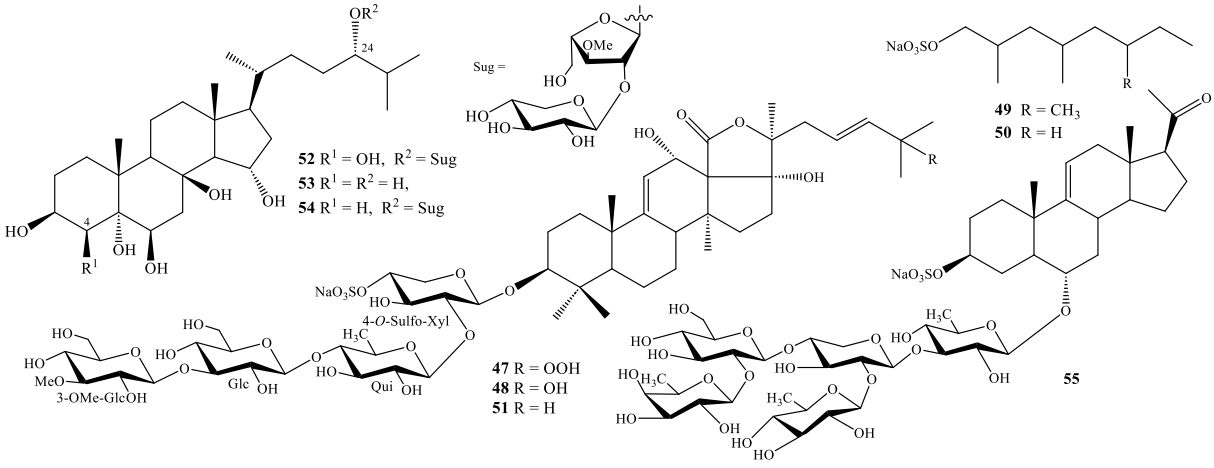
cembranoid. Trong đó, hợp chất **33** được xác định khác biệt với hợp chất ehrenbergol D (**35**) bởi dạng đồng phân hình học, dạng *cis* so với dạng *trans*, của liên kết đôi tại C-3/C-4.[22] Hai hợp chất này tương đồng về cấu hình tuyệt đối tại C-6 được thể hiện bởi sự tương đồng về hấp thụ Cotton dương tại 253 nm trên phổ ECD. Hợp chất **34** khác biệt với laevigatol A, một hợp chất mới khác mà nhóm tác giả phân lập trước đây, bởi sự epoxy hóa của liên kết đôi tại C-7/C-8. Tính mới trong cấu trúc hóa học của các hợp chất steroid (**38**-**43**) từ loài *Sarcophyton ehrenbergi* được thể hiện bởi sự khác biệt về vị trí hydroxy hóa, acetyl hóa và dehydroxy hóa trên khung steroid.[23] Đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập từ loài *Sarcophyton ehrenbergi* cho thấy các cembranoid (**33**-**37**) thể hiện tác dụng ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW264.7 với giá trị IC_{50} trong khoảng từ 37,14-73,3 μM. Trong khi đó, các steroid (**38**-**41**, và **43**) gây độc trên các dòng tế bào ung thư LU1, HepG2, MCF-7, HL-60, và SW480 với giá trị IC_{50} từ 16,02-57,96 μM. Hợp chất **42** không thể hiện tác dụng gây độc tế bào ung thư thử nghiệm (IC_{50} > 100 μM). Một nhóm hợp chất đặc biệt khác, bicyclic lactone, cũng được phát hiện khi nghiên cứu hóa học loài san hô mềm *Dendronephthya mucronata* thu ở vùng biển đảo Phú Quốc (Kiên Giang).[24] Trong nghiên cứu này, ba hợp chất bicyclic lactone mới, dendronephthyones A–C (**44**-**46**), với khung cấu trúc 14C ít gặp trước đây. Với khung cấu trúc *α,β*-không no ketone và furanolactone, cấu hình tuyệt đối của các hợp chất được xác định dựa trên phân tích phổ ECD và so sánh với dữ liệu của khung cấu trúc tương tự đã được công bố.



2.3. Một số kết quả nổi bật về hóa học, hoạt tính sinh học từ các loài da gai

Các loài động vật da gai sinh sống ở vùng biển Việt Nam chủ yếu gồm năm lớp chính: hải sâm, cầu gai, sao biển, huệ biển và đuôi rắn. Nghiên cứu về hóa học loài hải sâm *Holothuria edulis*,[25] nhóm nghiên cứu tiếp tục phát hiện hợp chất holostane saponin mới, đặt tên là holothurin A_5 (**47**). Tính mới trong cấu trúc hóa học của hợp chất này thuộc về nhóm chức hydroperoxide liên kết tại C-25 trên khung holostane, khác biệt so với hợp chất holothurin A2 (**51**) đã công bố trước đây. Sự xuất hiện của nhóm hydroperoxide được qui kết bởi tín hiệu ở vùng trường thấp của carbon C-25 ($\delta_{C\text{-}25}$ 81,1) và công thức phân tử xác định được trên phổ HR-ESI-MS. Tương tự các hoslostane saponin khác từ hải sâm, với chuỗi saccharide chứa bốn đơn vị đường, quy kết số liệu phổ và minh chứng cấu trúc cho hợp phần đường của hợp chất này được khẳng định bằng kỹ thuật phổ TOCSY. Tiếp đó, tiến hành nghiên cứu thành phần hóa học của loài hải sâm *Stichopus herrmanni*[26,27] đã phát hiện ba hợp chất mới gồm holothurin A_6 (**48**), herrmanane A (**49**) và herrmanane B (**50**). Trong đó, cấu trúc hóa học của holothurin A_6 (**48**) được xác định hoàn toàn tương tự với holothurin A_5 (**47**) ngoại trừ sự khác biệt về nhóm thế hydroxy tại C-25. Bên cạnh dữ liệu khối phổ phân giải cao, sự thay thế nhóm hydroperoxy (ở hợp chất **47**) bằng nhóm hydroxy (ở hợp chất **48**) được phân biệt rõ ràng bằng sự dịch chuyển mạnh về vùng trường cao của tín hiệu carbon C-25 ($\delta_{C\text{-}25}$ 69,6, $\Delta\delta_C$ = 11,5 ppm).[26] Hai hợp chất **49** và **50** thuộc nhóm dẫn xuất muối sulfate của hydrocarbon.[27] Mặc dù các nhóm thế sulfonic và muối của nó rất ít gặp trong các loài thực vật trên cạn, tuy nhiên nhóm chức này tương đối phổ biến có trong các hợp chất thứ cấp từ hải

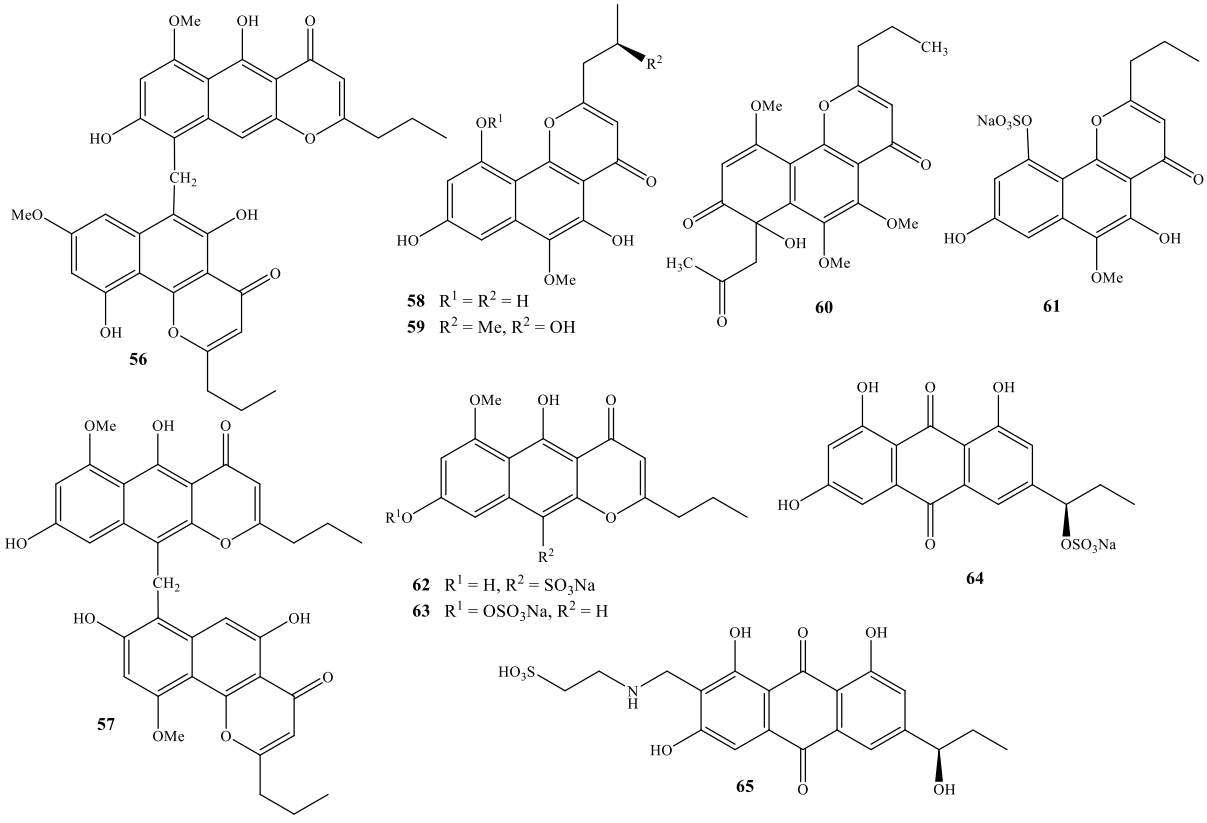
sâm. Đánh giá tác dụng gây độc tế bào ung thư (LNCaP, HepG2, KB, MCF7, SK-Mel2) nhận thấy các hợp chất **47**-**50** gây độc chọn lọc trên các dòng tế bào ung thư thử nghiệm. Trong đó, holothurin A_6 gây độc tốt nhất trên hai dòng tế bào MCF7 và SK-Mel2 với giá trị IC_{50} lần lượt là 14,31 μM và 13,87 μM. Điều thú vị hơn là hợp chất này không gây độc đối với dòng tế bào thường HEK-293A (IC_{50} > 100 μM). Tuy vậy, xem xét về mối liên quan giữa cấu trúc hóa học và hoạt tính cho thấy nhóm hydroxy hay nhóm hydroperoxy ở C-25 (hợp chất **47**, **48** so với hợp chất **51**) đều làm giảm hoạt tính gây độc tế bào ung thư của nhóm hợp chất này. [26] Nghiên cứu về hóa học loài sao biển *Pentaceraster regulus*[28] đã xác định được nhóm hợp chất polyhydroxy steroid glycoside, trong đó có hai hợp chất mới là regulusoside D (**52**) và (24*S*)-cholestane-3*β*,5,6*β*,8,15*α*,24-hexol (**53**). Các hợp chất này khác biệt với hợp chất đã được công bố trước đây, cũng từ loài sao biển *P. regulus*, bởi sự hydroxy hoặc desaccharide hóa trên khung steroid. Cụ thể, cấu trúc của regulusoside D (**52**) khác với regulusoside A (**54**) bởi sự hydroxy hóa tại C-4 trong khi đó hợp chất **53** được xác định chính là phần aglycone của hợp chất **54**.



Ở hợp chất **52**, quá trình hydroxy hóa ở C-4 hình thành thêm một trung tâm bất đối tại carbon này. Giá trị hằng số tương tác spin-spin giữa H-3 và H-4 (J = 3,5 Hz) cho phép quy kết vị trí lập thể *beta-axial* của nhóm hydroxy tại C-4 của hợp chất này. Ở một nghiên cứu khác, từ loài sao biển *Protoreaster nodosus*[29] thu tại vùng biển thuộc Hòn Cau (Bình Thuận), nhóm nghiên cứu cũng phát hiện năm hợp chất asterosaponin trong đó có một hợp chất mới, protonodososide (**55**). Khác với loài sao biển *Pentaceraster regulus*, các steroid glycoside từ loài sao biển *Protoreaster nodosus* mang khung carbon pregnan sterol. Tính mới trong cấu trúc của hợp chất **55** thuộc về chuỗi saccharide. Cũng giống với các saponin có trong hải sâm, các asterosaponin trong sao biển đều đặc trưng bởi chuỗi saccharide gồm nhiều đơn vị đường.

Cấu trúc hóa học và liên kết trong chuỗi đường ở hợp chất **55** do đó được quy kết bằng kỹ thuật phổ TOCSY. Các polyhydroxy steroid glycoside **52** và **53** từ loài sao biển *Pentaceraster regulus* thể hiện tác dụng ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW264.7[28] với giá trị IC_{50} lần lượt là 9,13 μM và 9,19 μM (nhỏ hơn đối chứng dương L-NMMA, IC_{50} = 31,29 μM). Trong khi đó, các asterosaponin từ loài sao biển *Protoreaster nodosus* thể hiện hoạt tính gây độc yếu trên các dòng tế bào ung thư thử nghiệm.[29] Huệ biển thuộc nhóm động vật da gai chứa các hợp chất sắc tố có hoạt tính sinh học thú vị nhưng ít được nghiên cứu cho đến nay. Từ loài huệ biển *Comanthus delicata* [30,31] thu tại vịnh Vân Phong - Khánh Hòa, nhóm nghiên cứu đã phát hiện hơn 20 hợp chất sắc tố thuộc nhóm naphthopyrone và anthraquinone trong đó có mười hợp chất mới, delicapyron A-H (**56**-**63**) và delicaquinon A-B (**64**-**65**). Hai hợp chất delicapyron A và B có cấu trúc hóa học là các bisnaphthopyrone bao gồm một đơn vị naphthopyrone góc và một đơn vị naphthopyrone thẳng liên kết với nhau qua một nhóm methylene. Cấu trúc khung bisnaphthopyrone này cho đến nay chưa từng được công bố. Hợp

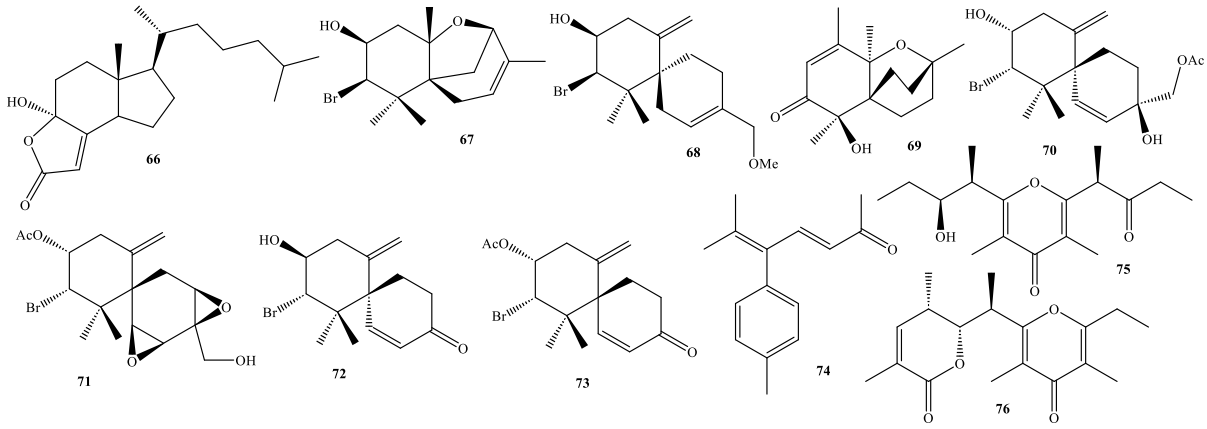
chất delicapyron D (**59**) có nhóm thế hydroxy ở mạch nhánh, tạo thành hợp chất có một carbon bất đối có tính quang hoạt. Cấu hình tuyệt đối tại carbon bất đối này được xác định là *R* dựa trên chiều hướng và giá trị độ quay cực của hợp chất này theo thực nghiệm và so sánh với các kết quả nhận được theo tính toán lý thuyết sử dụng phần mềm bản quyền Gaussian 16.[30] Hợp chất delicapyron E (**60**) cũng có một carbon bất đối trong phân tử. Tuy nhiên, với tính chất không hoạt động quang (giá trị độ quay cực đo được bằng 0 và không có hấp thụ Cotton trên phổ ECD) hợp chất này được quy kết tồn tại ở trong dung dịch dưới dạng hỗn hợp racemic. Các hợp chất delicapyron F-H (**61-63**) và delicaquinon A-B (**64-65**) lại có nhóm chức sulfate hay nhóm taurin trong phân tử. Giống với hợp chất **59**, hai hợp chất **64-65** đều có một carbon bất đối ở phần mạch nhánh. Cấu hình tuyệt đối của carbon này được xác định là *R* bằng chiều hướng và giá trị độ quay cực trong thực nghiệm so sánh với các kết quả nhận được theo tính toán lý thuyết.[31] Các hợp chất naphthopyrone và anthraquinone (**56-65**) có tác dụng gây độc chọn lọc trên một số dòng tế bào ung thư thử nghiệm. Chẳng hạn, delicapyron B (**57**) gây độc đối với dòng tế bào SK-Mel2 (IC_{50} = 11,99 μM) và MCF7 (IC_{50} = 14,90 μM) trong khi không ảnh hưởng tới các dòng tế bào ung thư thử nghiệm khác (IC_{50} > 100 μM) bao gồm KB, HepG2 và LNCaP. Hay hợp chất delicapyron D (**59**) gây độc đối với dòng tế bào SK-Mel2 (IC_{50} = 8,51 μM) nhưng gây độc yếu với bốn dòng tế bào ung thư còn lại (IC_{50}: 39,98 ~ 80,12 μM).



2.4. Một số kết quả nổi bật về hóa học, hoạt tính sinh học từ các loài động vật thân mềm

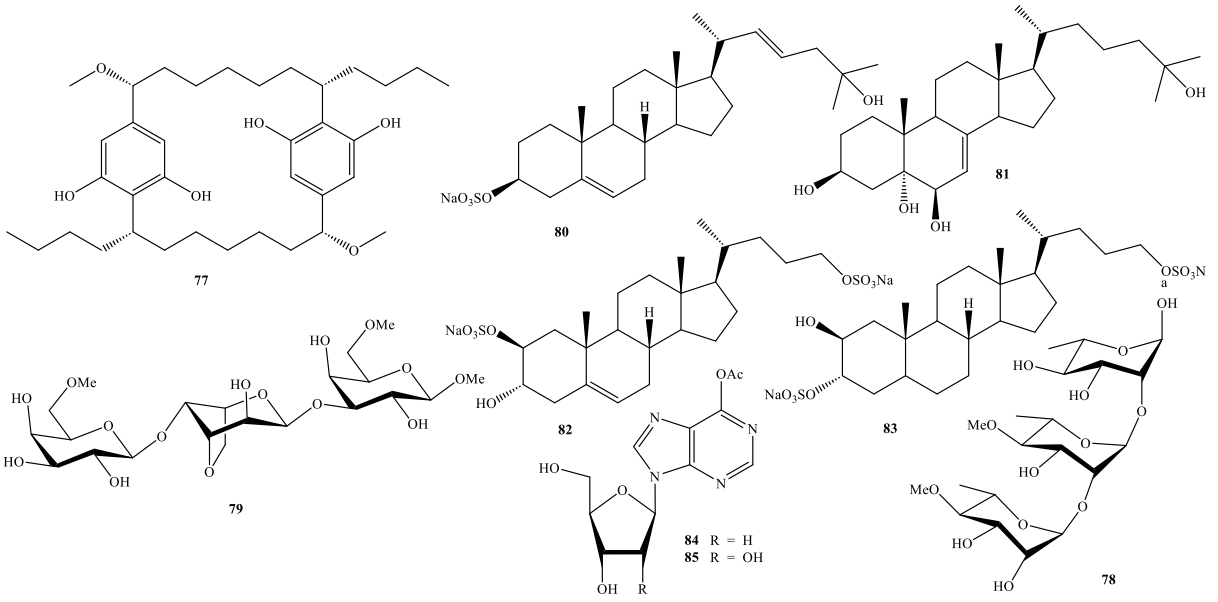
Hướng nghiên cứu về hóa học các hợp chất thiên nhiên biển trên đối tượng sinh vật biển ngành thân mềm và hải miên có thể coi là rất mới ở Việt Nam. Giai đoạn 2020-2025, một số loài động vật thân mềm được nghiên cứu về hóa học và hoạt tính sinh học tại Viện Hóa sinh biển chia làm hai nhóm chính ốc biển và thỏ biển. Từ loài thỏ biển *Dendrodoris fumata*[32] đã phát hiện hợp chất dendrodoristerol (**66**) có cấu trúc hóa học mới. Hợp chất này có cấu trúc hóa học thuộc nhóm sterol bị oxi hóa phá vỡ, cắt vòng A và B. Quá trình oxi hóa, cắt mạch và đóng vòng lacton hình thành tâm bất đối với hệ liên hợp α,β-không no lacton, xuất hiện hiệu ứng Cotton với bức xạ kích thích π-π*. Cấu hình tuyệt đối tại C-4 của hợp chất này do đó

được xác định dựa trên hiệu ứng Cotton dương tại 241 nm. Hợp chất **66** gây độc các dòng tế bào ung thư thử nghiệm (HL-60, KB, LU-1, MCF-7, LNCaP và HepG2) với giá trị IC_{50} từ 21,59-41,19 µM. Nghiên cứu sâu hơn về cơ chế gây độc tế bào HL-60 cho thấy hợp chất **66** gây chết tế bào theo cả hai con đường apoptosis và necrosis. Nghiên cứu hóa học loài thỏ biển *Aplysia dactylomela* thu tại vùng biển Hòn Mê (Thanh Hóa),[33] nhóm nghiên cứu phát hiện ba hợp chất sesquiterpene mới, aplydactylonins A-C (**67**-**69**), với dạng khung chamigrane.



Do có chứa carbon spiro trong cấu trúc, các hợp chất **67**-**69** có thể tồn tại ở nhiều dạng cấu dạng bền, phân tích cấu hình tương đối do đó được thực hiện kết hợp cả phân tích phổ NOESY và tính toán phổ ^{1}H, ^{13}C-NMR theo GIAO- IEFPCM/mPW1PW91/6-311G^{+}(2d,p). Cấu hình tuyệt đối của các hợp chất sau đó được xác định bằng kết hợp giữa phổ ECD thực nghiệm và tính toán lý thuyết theo TD-DFT. Ngoài ra, với sự có mặt của nguyên tử brom, hợp chất **67** phân lập được với khối lượng đủ lớn và dễ dàng kết tinh trong methanol, cấu hình tuyệt đối của hợp chất này một lần nữa được khẳng định bằng phân tích nhiễu xạ đơn tinh thể X-ray với nguồn chiếu xạ MoK*α*. Đánh giá tác dụng gây độc tế bào ung thư cho thấy hợp chất **68** gây độc các dòng tế bào HepG2, DU145 và A549 với các giá trị IC_{50} tương ứng là 4,08 µM, 38,64 µM và 12,33 µM. Từ kết quả gây độc tế bào nhận được, hợp chất **68** tiếp tục được đánh giá cơ chế gây độc tế bào HepG2 và nhận thấy hợp chất này, ở 5 µM, thúc đẩy quá trình apoptosis và bắt giữ pha sub-G1 trong chu trình phân bào ở tế bào HepG2. Từ kết quả thú vị về hóa học loài thỏ biển *Aplysia dactylomela*, loài này tiếp tục được thu thập ở các vùng biển khác: Nhật Lệ (Quảng Bình) và Phú Quý (Bình Thuận) để nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học. Với các mẫu thu được ở vùng biển Nhật Lệ (Quảng Bình), nhóm nghiên cứu tiếp tục phát hiện được hai hợp chất chamigrane sesquiterpene mới khác có chứa nguyên tử brom, dactylomelanin A-B (**70**-**71**).[34] Tương tự như các hợp chất **67**-**69**, cấu hình tương đối của hợp chất **70** và **71** trước tiên được xác định bằng tính toán phổ NMR theo hai phương pháp khác nhau, *ω*B97xD/6–31G(d) tại pha khí và IEFPCM-$CHCl_3$/mPW1PW91/6–311+G(2d,p), các số liệu tính toán và thực nghiệm sau đó được phân tích theo mô hình DP4+ cho phép xác định cấu hình tương đối của các hợp chất. Sau cùng, cấu hình tuyệt đối của chúng được quy kết bằng dữ liệu thực nghiệm và tính toán lý thuyết phổ ECD theo TD-DFT, IEFPCM-MeOH/CAM-B3LYP/cc-PVTZ. Với mẫu thỏ biển *Aplysia dactylomela* thu tại vùng biển Phú Quý (Bình Thuận),[35] nhóm nghiên cứu lại phát hiện ba hợp chất mới khác với cấu trúc norchamigrane (**72** và **73**) và bisabolane (**74**) sesquiterpene. Hai hợp chất norchamigrane (**72** và **73**) được hình thành bởi sự oxi hóa cắt mạch carbon C-15 của khung chamigrane. Ngoài ra, ở hợp chất **72**, do có hai nhóm thế là hydroxy và brom ở hai carbon cạnh nhau, các số liệu phổ NMR thực nghiệm chưa có đủ minh chứng để quy kết chính xác vị trí của hai nhóm thế này (nhóm hydroxy và brom lần lượt ở C-9 và C-10 hay C-10 và C-9). Vì vậy, phương pháp tính toán phổ NMR đã được thực hiện theo mô hình PCM-$CHCl_3$/mPW1PW91/6–31^{+}G(d,p) và phân tích DP4+ và cho phép quy kết nhóm thế brom tại C-10 và nhóm hydroxy tại C-9. Cấu hình tuyệt đối của hai hợp chất **72** và **73** sau đó cũng

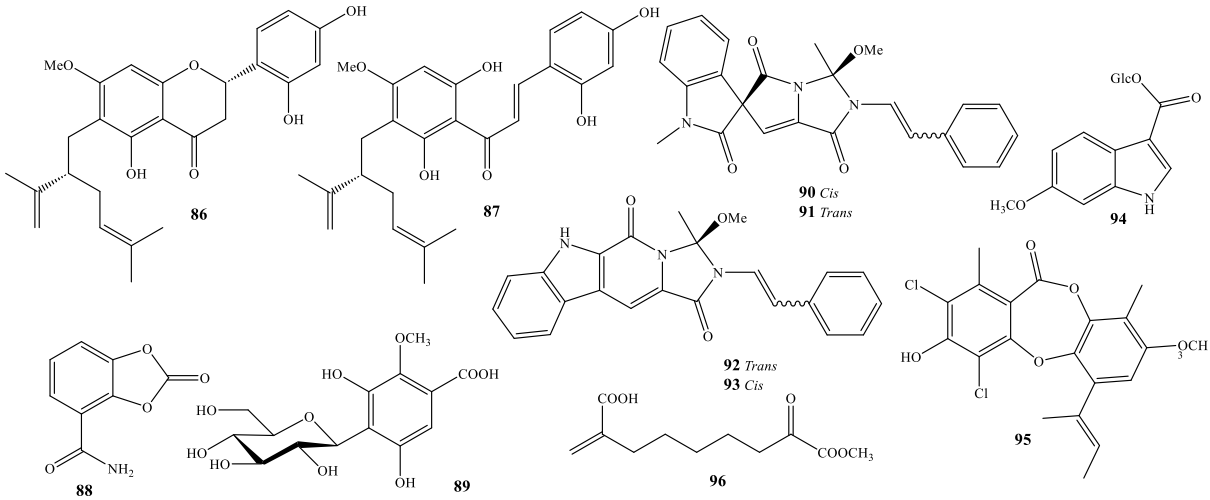
được xác định bằng phân tích phổ ECD theo thực nghiệm và tính toán lý thuyết TD-DFT. Các kết quả nghiên cứu cho thấy thành phần hóa học của thỏ biển *Aplysia dactylomela* có nhiều biến đổi theo khu vực sinh sống. Bên cạnh sự khác biệt về môi trường sống, sự khác biệt về các hợp chất thứ cấp từ sinh vật biển còn được giải thích bằng sự khác biệt về nguồn thức ăn khác nhau tại nơi sinh sống của chúng.



Tiếp đó, nghiên cứu hóa học loài thỏ biển *Paromoionchis tumidus*[36] thu thập ở vùng biển Khánh Hòa, nhóm nghiên cứu phát hiện hai hợp chất mới thuộc nhóm polypropionate (**75** và **76**) mang khung carbon 17C và 18C. Mặc dù đều là các phân tử nhỏ, đơn giản, nhưng chúng có chứa các nguyên tử carbon bất đối ở mạch nhánh, có tính linh động cao. Do đó, cấu hình tương đối tại các trung tâm bất đối này cũng được xác định bằng tính toán phổ ^{1}H và ^{13}C NMR cho lần lượt các dạng cấu hình tương đối. Cấu hình tuyệt đối của chúng sau cùng được xác định bằng phương pháp phổ ECD và khẳng định lại bằng nhiễu xạ đơn tinh thể X-ray. Đánh giá tác dụng kháng vi sinh vật kiểm định cho thấy hợp chất **75** và **76** thể hiện hoạt tính yếu đối với chủng vi khuẩn Gram(+) *Enterococcus faecalis* với giá trị MIC lần lượt là 64 µg/mL và 128 µg/mL. Kết quả nghiên cứu về hóa học và hoạt tính sinh học của các loài ốc biển cũng nhận được các kết quả thú vị. Từ loài ốc biển *Planaxis sulcatus,*[37] nhóm nghiên cứu đã phát hiện một hợp chất mới có cấu trúc [7.7] paracyclophane (**77**), một nhóm hợp chất vòng lớn được hình thành bởi liên kết giữa hai đơn vị resorcinol với hai chuỗi carbon mạch thẳng 7C. Cấu hình tuyệt đối của hợp chất này cũng được xác định bằng phổ ECD và so sánh với dữ liệu đã công bố cho khung hợp chất này. Với cấu trúc hóa học đặc biệt, hợp chất **77** thể hiện tác dụng gây độc tế bào ung thư trên tám dòng tế bào ung thư thử nghiệm với các giá trị IC_{50} nhỏ, từ 1,81 đến 3,80 µg/mL. Từ loài ốc *Turbo chrysostomus*[38] thu ở vịnh Vân Phong (Khánh Hòa), nhóm nghiên cứu phát hiện được hai hợp chất trisaccharide mới, chrysostoside A và B (**78** và **79**). Trong đó, hợp chất **78** được hình thành từ ba đơn vị rhamnose còn hợp chất **79** được hình thành từ ba đơn vị galactose. Tuy vậy, sự xuất hiện của các nhóm methoxy và 3,6-anhydro trong phân tử đã tạo lên tính mới trong cấu trúc của hai hợp chất này. Từ loài ốc biển *Mauritia arabica* thu thập ở vùng biển Bình Thuận, nhóm nghiên cứu phát hiện hai hợp chất sterol mới (mauriarabicanoid A và B, **80** và **81**). Hai hợp chất này có hoạt tính kháng vi sinh vật yếu đối với chủng vi khuẩn Gram(+) *Enterococcus faecalis* với giá trị MIC đều là 64 µg/mL. Từ hai loài ốc biển, *Lambis lambis*[39] và *Tectus maximus*[40] thu thập ở quần đảo Trường Sa, nhóm nghiên cứu lần lượt phát hiện hai hợp chất sterol mới khác mang nhóm sulfate (**82** và **83**, từ loài *Lambis lambis*) và hai dẫn xuất nucleotide mới (**84** và **85**, từ loài *Tectus maximus*). Đây là nghiên cứu đầu tiên về hóa học của sinh vật biển ở khu vực quần đảo Trường Sa.

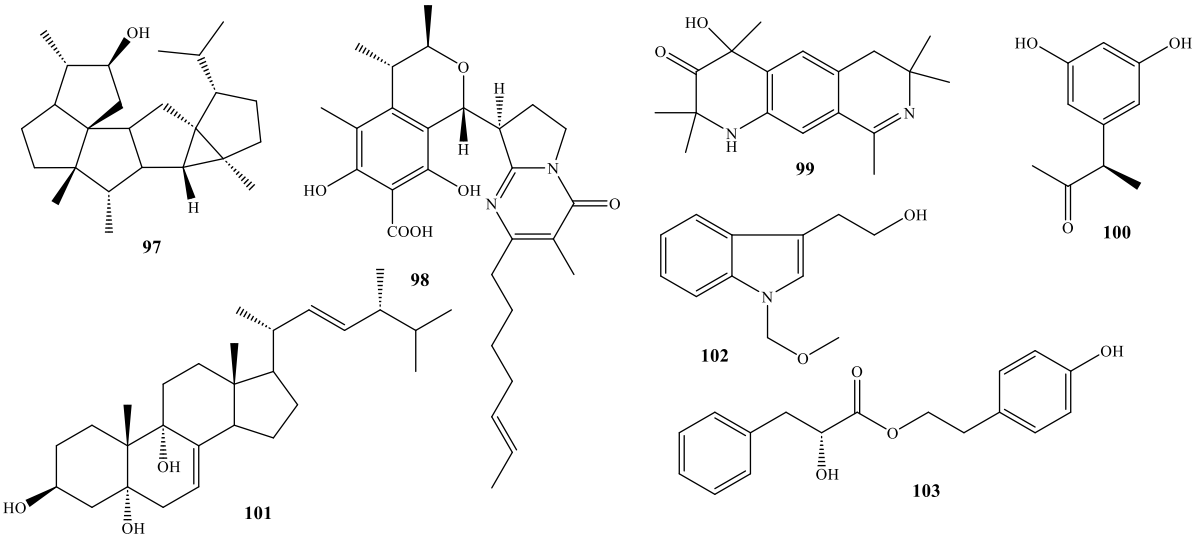
2.5. Một số kết quả nổi bật về hóa học, hoạt tính sinh học từ các vi sinh vật biển

Trong giai đoạn 2020-2025, nghiên cứu về hóa học và hoạt tính sinh học các vi sinh vật biển được tập trung chủ yếu ở hai nhóm chính gồm xạ khuẩn và vi nấm. Từ chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. (strain G246) phân lập từ hải miên *Halichondria panicea*, nhóm nghiên cứu đã phân lập và xác định được hai hợp chất flavonoid mới (**86** và **87**). Tính mới trong cấu trúc hóa học của chúng thể hiện bởi sự xuất hiện của nhóm lavandulyl liên kết với khung cấu trúc flavanone và chalcone. Hơn nữa, các kết quả này cũng là kết quả đầu tiên phát hiện về nhóm hợp chất này từ nguồn vi sinh vật.[41] Cấu hình tuyệt đối của hai hợp chất **86** và **87** được xác định bằng phân tích phổ ECD thực nghiệm và so sánh với các dữ liệu tính toán lý thuyết theo TD-DFT. Theo đó, cấu hình tuyệt đối của nhóm lavandulyl được xác định có cấu hình *S*. Hợp chất **87** có khả năng kháng vi sinh vật kiểm định, đặc biệt ở các chủng Gram(+) như *Staphylococcus aureus* (MIC = 1 µg/mL) và *Bacillus cereus* (MIC = 4 µg/mL). Trong nghiên cứu khác, từ chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. G261 phân lập được từ mẫu trầm tích đáy biển thuộc vùng Cù Lao Chàm - Quảng Nam, nhóm nghiên cứu xác định được một hợp chất dẫn xuất 1,3-benzodioxole mới (**88**). Mặc dù hợp chất này có phân tử khối nhỏ, tuy nhiên lại có chứa dị tố nitrogen và năm carbon không liên kết với hydro ở gần nhau, do vậy quy kết cấu trúc và dữ liệu phổ của hợp chất này được xác định bằng kết hợp các số liệu phổ thực nghiệm với tính toán phổ ^{13}C-NMR của tương ứng bốn dạng đồng phân khác nhau của chúng.[42] Từ mẫu trầm tích đáy biển khác ở vùng biển Vũng Áng - Hà Tĩnh, nhóm nghiên cứu phân lập và định danh bằng phân tích gen 16*S* rRNA, xác định được chủng xạ khuẩn *Nocardiopsis synnemataformans* HT06.[43] Nghiên cứu hóa học của sinh khối chủng xạ khuẩn này đã phát hiện dẫn xuất C-glucoside mới của acid benzoic (**89**). Hợp chất này thể hiện tác dụng kháng vi sinh vật tốt nhất trên chủng nấm men *Candida albicans*, với giá trị MIC = 16 µg/mL. Từ chủng xạ khuẩn *Actinoalloteichus cyanogriseus* G631 phân lập được từ loài san hô mềm *Sarcophyton infundibuliforme* ở vùng biển Phú Quý - Bình Thuận, nhóm nghiên cứu đã phát hiện được một số các hợp chất alkaloid (**90**-**93**) có cấu trúc hóa học thú vị, đặc chưng cho loài xạ khuẩn này[44]. Trong số đó, hợp chất **90** có cấu trúc hóa học mới, nó là dạng đồng phân hình học *cis* ở nhánh styryl của hợp chất đã được công bố trước đây, cyanogramide (**91**).



Các alkaloid **90**-**93**, đặc biệt là hai hợp chất **90** và **91**, đều có trung tâm bất đối. Tuy vậy, với cấu trúc khung carbon đã được công bố, cấu hình tuyệt đối của các hợp chất được xác định bằng phân tích phổ ECD và so sánh chiều hướng hiệu ứng Cotton nhận được với các dữ liệu đã được công bố trước đây. Các hợp chất **90**-**93** thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật yếu trên bảy chủng vi sinh vật kiểm định thử nghiệm. Các hợp chất alkaloid là dẫn xuất của indole và quinazoline cũng được phát hiện từ chủng vi nấm biển *Aspergillus fumigatus* M580 (phân lập từ loài hải sâm *Colochirus quadrangularis* thu ở vùng biển Cô Tô, Thanh Lân, Quảng

Ninh). Trong đó, hợp chất indole glucoside (**94**) có cấu trúc hóa học mới.[45] Nghiên cứu thành phần hóa học của chủng vi nấm biển *Aspergillus nidulans* M256 (phân lập từ loài hải miên *Echinodictyum conulosum*), nhóm nghiên cứu phát hiện sự có mặt của hai nhóm hợp chất depsidone và macrocyclic peptide. Trong đó, hợp chất depsidone (**95**) được xác định có cấu trúc hóa học mới.[46] Các depsidone được thông báo hay gặp trong vi sinh vật hoặc địa y, có cấu trúc vòng ester và ether liên kết giữa hai nhân benzene. Trên khung cấu trúc depsidone thường có nhiều nhóm thế, hình thành nhiều carbon không liên kết với hydro ở gần nhau. Việc xác định vị trí các nhóm thế trên khung depsidone do đó cần thiết được hỗ trợ bởi các tương tác xa (qua bốn hoặc năm liên kết) trên phổ HMBC. Hợp chất **95** thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật chọn lọc trên các chủng vi sinh vật kiểm định thử nghiệm. Cụ thể, hợp chất này ức chế sự phát triển của các chủng vi khuẩn Gram(+) gồm *Bacillus cereus* (MIC = 2 µg/mL), *Enterococcus faecalis* (MIC = 4 µg/mL), *Staphylococcus aureus* (MIC = 4 µg/mL) và nấm men *C. albicans* (MIC = 8 µg/mL) nhưng không ảnh hưởng tới sự phát triển của các chủng Gram(-) thử nghiệm (MIC > 256 µg/mL). Từ chủng vi nấm biển *Aspergillus* sp. OPR23-FS01 (phân lập từ hải miên ở vùng biển Phan Rang - Ninh Thuận), nhóm nghiên cứu phát hiện một hợp chất mới là diacid béo mạch 10 carbon (**96**). Khác với các acid béo thường gặp trong tự nhiên là dạng mono acid mạch thẳng, hợp chất **96** là một diacid và có nhánh không bão hòa (methylene) tại C-2.[47] Trong nghiên cứu về hóa học loài vi nấm biển *Penicillium oxalicum* M893 (phân lập từ rong nâu *Spatoglossum* sp. ở vùng biển Phú Quý - Bình Thuận), nhóm nghiên cứu phát hiện hợp chất sesterterpene mới (**97**) có cấu trúc sáu vòng.[48] Khung carbon sesterterpene sáu vòng như ở hợp chất **97** mới chỉ được công bố ở một nghiên cứu về hóa học của chủng vi nấm *Aspergillus nidulans*.[48] Ở nghiên cứu khác về chủng vi nấm *Penicillium* sp. OM01 (phân lập từ loài ốc biển *Spondylus squamosus* thu tại vùng biển Quảng Ninh), một hợp chất alkaloid mới (**98**) đã được phát hiện.[49] Khung cấu trúc alkaloid ở hợp chất này chưa từng được công bố cho đến nay. Sự liên kết giữa hai đơn vị cấu trúc phenolic acid và phần cấu trúc mang nitrogen thông qua liên kết đơn C-C, làm cho hai đơn vị cấu trúc này có khả năng quay tự do xung quanh trục liên kết. Do vậy, cấu hình tuyệt đối của hợp chất được xác định bằng phân tích phổ ECD và so sánh với phổ ECD tính toán cho bốn trường hợp đồng phân cấu hình hình thành giữa hai nhóm cấu trúc. Hợp chất **98** có tác dụng kháng vi sinh vật yếu, với giá trị MIC = 32 µg/mL và 64 µg/mL trên hai chủng *Staphylococcus aureus* và *Bacillus cereus*.



Từ chủng vi nấm *Hamigera avellanea* (phân lập từ loài hải miên *Tethya maza* thu tại vùng biển Bái Tử Long - Quảng Ninh), nhóm nghiên cứu đã phát hiện được một hợp chất alkaloid mới (hamiavemin A, **99**). Hợp chất này có một carbon bất đối nhưng không có tính hoạt động quang do đó được xác định tồn tại trong dung dịch ở dạng hỗn hợp racemic.[50] Hỗn

hợp racemic này tiếp tục được tinh chế sử dụng cột sắc ký HPLC bất đối Chiralpak AS-3 nhận được tương ứng hai đồng phân đối quang (+)-hamiavemin A và (-)-hamiavemin A. Cấu hình tuyệt đối của mỗi dạng đồng phân này sau đó được xác định bằng phân tích phổ ECD kết hợp với dữ liệu phổ tính toán lý thuyết theo DT-DFT. Hợp chất **99** có hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định với giá trị MIC 32~128 µg/mL đối với các chủng Gram(+) đồng thời thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư với giá trị IC_{50} 59,46 µg/mL, 63,58 µg/mL và 55,35 µg/mL tương ứng với ba dòng tế bào ung thư HepG2, A549 và MCF7. Một hợp chất phenolic mới khác (**100**) cũng được phát hiện từ loài vi nấm biển *Ascomycota* sp. VK12 (phân lập từ hải miên ở vùng biển Quảng Nam). Hợp chất này có một carbon bất đối ở mạch nhánh, cấu hình tuyệt đối của hợp chất được xác định băng so sánh tính chất hoạt động quang trong thực nghiệm bao gồm độ quay cực và hiệu ứng Cotton trên phổ ECD so với các dữ liệu tính toán được theo lý thuyết.[51] Kết quả đánh giá hoạt tính sinh học cho thấy hợp chất **100** gây độc các dòng tế bào ung thư HepG2 (IC_{50} = 65,9 µM), MCF4 (IC_{50} = 57,7 µM), SK-Mel-2 (IC_{50} = 96,5 µM), và ức chế sản sinh NO trong tế bào tiểu thần kinh đệm BV2 (IC_{50} = 76,5 µM).

2.6. Một số kết quả nổi bật về hóa học, hoạt tính sinh học từ các loài vi tảo biển

Nghiên cứu về hóa học và hoạt tính sinh học từ các loài vi tảo biển vẫn được xem là hướng nghiên cứu mới, ít nhóm nghiên cứu thực hiện cho đến nay. Tuy vậy, với các ưu điểm như vòng đời ngắn, quá trình phát triển đơn giản, năng suất sinh khối lớn,… vi tảo được đánh giá là nguồn nguyên liệu tiềm năng trong sản xuất công nghiệp. Theo hướng nghiên cứu này, trong giai đoạn 2020-2025, các nghiên cứu được tiến hành trên một số loài vi tảo biển, chủ yếu thuộc nhóm vi tảo dị dưỡng. Từ loài vi tảo *Thraustochytrium pachydermum*[52] phân lập được từ vùng biển thuộc quần đảo Trường Sa, nhóm nghiên cứu đã phân lập và xác định được mười bảy hợp chất trong đó có một hợp chất sterol mới (**101**). Bên cạnh nhóm hợp chất sterol, thành phần hóa học của loài vi tảo này còn đa dạng nhóm hợp chất béo glycolipid mang nhóm sulfonate.[52] Tiếp đó, từ loài vi tảo dị dưỡng khác phân lập từ vùng biển thuộc quần đảo Trường Sa, *Aurantiochytrium* sp. SC145,[53] nhóm nghiên cứu phát hiện hai hợp chất mới (**102** và **103**). Hợp chất **102** là dẫn xuất của indole, có cấu trúc hóa học đơn giản. Tuy vậy, sự xuất hiện của nhóm thế N-methoxymethyl mang lại tính mới trong cấu trúc hóa học. Các dẫn xuất của indole thông thường có các nhóm thế liên kết trực tiếp với khung carbon. Trong khi các nhóm thế liên kết với nguyên tử nitrogen rất ít gặp ở nhóm hợp chất này. Hợp chất **103** được xác định là dẫn xuất ester của *β*-phenyllactic acid. Cấu hình tuyệt đối dạng *R* của hợp chất này được xác định dựa trên độ quay cực dương và hiệu ứng Cotton âm tại 220 nm trên phổ ECD kết hợp so sánh với dữ liệu phổ ECD tính toán theo TD-DFT.[53] Bên cạnh nhóm hợp chất dẫn xuất của indole và phenolic, kết quả nghiên cứu cũng phân lập và xác định sự có mặt của nhóm hợp chất sterol. Các nghiên cứu khác về hóa học của các loài vi tảo biển *Schizochytrium limacinum* (phân lập từ vùng biển Đầm Nại - Ninh Thuận) và *Thraustochytrium aureum* (phân lập từ vùng biển Phú Hài - Bình Thuận) mặc dù chưa phát hiện được các hợp chất mới, nhưng kết quả nghiên cứu cũng cho thấy hai loài vi tảo này có chứa ba nhóm chất chính gồm alkaloid, steroid và phenolic.[54,55] Các kết quả này đã chỉ ra có sự khác biệt rõ ràng về nhóm hợp chất chính của các loài vi tảo dị dưỡng so với các loài vi tảo quang tự dưỡng (nhóm hợp chất carotenoid) đã được nghiên cứu ở giai đoạn trước đây. Các hợp chất phân lập từ vi tảo biển đã được đánh giá về hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định và hoạt tính gây độc tế bào ung thư. Tuy nhiên, trong các nghiên cứu này chưa phát hiện được hợp chất có hoạt tính sinh học đặc biệt nổi trội.

3. DỰ KIẾN NGHIÊN CỨU TRONG GIAI ĐOẠN 2026-2030

Đa dạng sinh vật biển ở vùng biển chủ quyền của Việt Nam được chia làm sáu khu vực chính gồm: 1) Khu vực Đông Bắc (chủ yếu là vịnh Bắc Bộ), 2) Khu vực Bắc Trung Bộ - Trung Trung Bộ (vùng biển từ Thanh Hóa đến Phú Yên), 3) Khu vực Nam Trung Bộ (vùng

biển Khánh Hòa - Bình Thuận), 4) Khu vực Đông Nam Bộ (vùng biển Vũng Tàu - Cà Mau), 5) Khu vực Tây Nam Bộ (phần vịnh Thái Lan thuộc chủ quyền của Việt Nam), 6) Vùng đảo xa (tiêu biểu là quần đảo Trường Sa và Hoàng Sa). Các nghiên cứu dự kiến được triển khai theo các giai đoạn tương ứng với từng khu vực vùng biển trên. Giai đoạn I đã được thực hiện tập trung vào các loài sinh vật biển nhóm hải miên, da gai, san hô mềm, vi sinh vật biển thuộc vùng biển Đông Bắc. Giai đoạn II và III lần lượt đã được thực hiện nghiên cứu ở vùng biển Bắc Trung Bộ và vùng biển Nam Trung Bộ trong đó ngoài bốn nhóm sinh vật biển trên thì đã mở rộng nghiên cứu thêm hai nhóm sinh vật biển khác gồm động vật thân mềm và vi tảo biển. Trong các giai đoạn tiếp theo, từ năm 2026, nhóm nghiên cứu dự kiến tiếp tục thực hiện trên sáu nhóm sinh vật biển: hải miên, da gai, san hô mềm, vi sinh vật biển, động vật thân mềm, tảo biển ở các vùng biển còn lại; mở rộng nghiên cứu chuyên sâu về hóa lập thể của các hợp chất từ sinh vật biển, tổng hợp - bán tổng hợp các hợp chất có hoạt tính sinh học tiềm năng, áp dụng các kỹ thuật mới các cơ sở dữ liệu Hóa - Sinh - Tin học định hướng cho nghiên cứu về hợp chất thiên nhiên biển.

Sơ đồ các vùng biển nghiên cứu và dự kiến nghiên cứu

4. KẾT LUẬN

Giai đoạn 2020-2025 các nhà khoa học thuộc Viện Hóa sinh biển đã thực hiện nghiên cứu về hóa học và hoạt tính sinh học từ sáu nhóm sinh vật biển: hải miên, da gai, san hô mềm, vi sinh vật biển, động vật thân mềm, vi tảo biển chủ yếu thuộc khu vực vùng biển Nam Trung Bộ. Tổng thể đã thu thập được 254 mẫu sinh vật biển trong vùng biển nghiên cứu; phân lập và xác định được 385 hợp chất với gần 100 hợp chất có cấu trúc hóa học mới, nổi bật như tổng quan cụ thể đối với từng nhóm sinh vật biển ở trên. Các hoạt tính sinh học được đánh giá gồm

gây độc tế bào ung thư, kháng vi sinh vật và kháng viêm. Trong giai đoạn này, với sự hỗ trợ của các trang thiết bị nghiên cứu hiện đại như: Khối phổ phân giải cao, phân tích phổ ECD, sắc ký lỏng hiệu năng cao, thiết bị kết tinh, hệ tiến hành phản ứng hóa học chuyên dụng, và các phần mềm nghiên cứu bản quyền,… hóa học các sinh vật biển đã được nghiên cứu bài bản, hệ thống. Tính mới trong cấu trúc hóa học của các hợp chất được phát hiện không chỉ ở các nhóm thế mà còn ở bộ khung carbon của chúng. Đặc biệt, hóa lập thể của các hợp chất được xác định bằng các phương pháp tiên tiến nhất hiện nay như phổ CD, X-ray và phương pháp tính toán phổ ECD, NMR. Các kết quả nghiên cứu không những cho thấy giá trị khoa học và ý nghĩa thực tiễn của nguồn dược liệu biển nước ta mà còn góp phần đưa các nghiên cứu về hóa hợp chất thiên nhiên biển của Việt Nam lên tầm quốc tế.

Lời cảm ơn: Công trình này được hoàn thành với sự tài trợ kinh phí của Dự án nghiên cứu trọng điểm "Nghiên cứu tiềm năng về dược liệu biển tại vùng biển khu vực Nam Trung Bộ (vùng biển Khánh Hòa - Bình Thuận) Việt Nam, mã số: TĐDLB0.00/20-22. Các nghiên cứu này được thực hiện tiếp nối và kế thừa các kết quả nghiên cứu trước đây về Hóa học hợp chất thiên nhiên biển: "Nghiên cứu tiềm năng về dược liệu biển (vùng biển Đông Bắc Việt Nam)" và "Nghiên cứu tiềm năng về dược liệu biển tại vùng biển Trung Bộ (vùng biển Bắc Trung Bộ đến Trung Trung Bộ)" do GS.VS. Châu Văn Minh làm chủ nhiệm dự án.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. R. Marisa F. Miriam. An overview of the marine natural products in clinical trials and on the market, *J. Coast. Life Med.*, **2015**, *3*, 421-428.
2. S. M. F. M. Begum S. Hemalatha. Marine natural products - A vital source of novel biotherapeutics, *Curr. Pharmacol. Rep.*, **2022**, *8*, 339-349.
3. M. F. Mehbub, J. Lei, C. Franco, W. Zhang. Marine sponge derived natural products between 2001 and 2010: trends and opportunities for discovery of bioactives, *Mar. Drugs*, **2014**, *12*, 4539-4577.
4. A. R. Carroll, B. R. Copp, R. A. Davis, R. A. Keyzers, M. R. Prinsep. Marine natural products, *Nat. Prod. Rep.*, **2023**, *40*, 275-325.
5. A. R. Carroll, B. R. Copp, T. Grkovic, R. A. Keyzers, M. R. Prinsep. Marine natural products, *Nat. Prod. Rep.*, **2024**, *41*, 162-207.
6. Châu Văn Minh, Nguyễn Xuân Cường, Nguyễn Hải Đăng, Nguyễn Phương Thảo, Trần Hồng Quang, Nguyễn Hữu Tùng, Nguyễn Hoài Nam, Nguyễn Văn Hùng, Phan Văn Kiệm. Điểm lại các nghiên cứu Hóa học và hoạt tính sinh học một số loài sinh vật biển Việt Nam trong giai đoạn 2006-2012, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, **2012**, *50*, 825-837.
7. Nguyễn Xuân Cường, Nguyễn Xuân Nhiệm, Nguyễn Văn Thanh, Bùi Hữu Tài, Đoàn Thị Mai Hương, Phạm Văn Cường, Nguyễn Hoài Nam, Phạm Quốc Long, Phan Văn Kiệm, Châu Văn Minh. Điểm lại các nghiên cứu hóa học và hoạt tính sinh học một số loài sinh vật biển Việt Nam trong giai đoạn 2013-2017, *Vietnam J. Chem.*, **2018**, *56*, 1-19.
8. D. T. Trang, D. T. Dung, N. X. Nhiem, N. T. Cuc, P. H. Yen, D. T. T. Hang, T. M. Linh, N. C. Mai, P. T. T. Huong, B. H. Tai, P. V. Kiem. New tetracyclic and pentacyclic isomalabaricanes from the marine sponge *Rhabdastrella globostellata* (Carter, 1883), *Tetrahedron Lett.*, **2022**, *89*, 153607.
9. D. T. Trang, D. T. T. Hang, D. T. Dung, N. T. Cuc, P. H. Yen, P. T. T. Huong, L. T. Huyen, N. T. Mai, N. X. Nhiem, B. H. Tai, P. V. Kiem. Rhabdastrenones A–D from the sponge *Rhabdastrella globostellata*, *RSC Adv.*, **2022**, *12*, 10646-10652.

10. D. T. Trang, D. T. Dung, D. T. T. Hang, N. V. Dung, T. M. Linh, N. C. Mai, P. H. Yen, D. H. An, N. X. Nhiem, P. V. Kiem, B. H. Tai. Diketopiperazines from *Rhabdastrella globostellata*, *Vietnam J. Chem.*, **2022**, *60*, 27-31.

11. D. T. Hang, D. T. Trang, B. H. Tai, P. H. Yen, V. K. Thu, N. X. Nhiem, P. V. Kiem. Hippotulosas A-D: four new sesterterpenes from marine sponge *Hippospongia fistulosa* Lendenfeld, 1889, *Nat. Prod. Res.*, **2022**, *36*, 5247-5254.

12. V. K. Thu, D. T. Trang, D. T. T. Hang, N. X. Nhiem, T. H. Quang, P. H. Yen, B. H. Tai, P. V. Kiem. New merosesquiterpenes from the Vietnamese sponge *Hippospongia fistulosa* and their cytotoxic activity, *Phytochem. Lett.*, **2021**, *44*, 115-119.

13. D. T. T. Hang, D. T. Trang, P. H. Yen, N. T. Cuc, D. T. Dung, B. H. Tai, N. X. Nhiem, P. V. Kiem. A new meroterpene lactone and a new alkyl amino alcohol from the Vietnamese marine sponge *Hippospongia fistulosa* Lendenfeld, 1889, *Vietnam J. Chem.*, **2021**, *59*, 522-526.

14. P. V. Kiem, D. T. Trang, B. H. Tai, N. X. Nhiem, D. T. T. Hang, D. C. Thung, D. T. Thao, P. H. Yen, P. T. T. Huong. Halipanasterol, a new sterol isolated from the marine sponge *Halichondria panicea*, *Nat. Prod. Commun.*, **2022**, *17*, 1934578X221088061.

15. B. H. Tai, D. T. T. Hang, D. C. Thung, D. T. Trang, P. H. Yen, D. T. H. Yen, P. T. T. Huong, D. T. Dung, N. C. Cuong, D. T. Thao, N. X. Nhiem, P. V. Kiem. Xestospongiene VN1, a new brominated polyunsaturated lipid from marine sponge *Xestospongia testudinaria* (Lamark, 1815), *Vietnam J. Chem.*, **2022**, *60*, 540-545.

16. B. H. Tai, D. T. Hang, D. T. Trang, P. H. Yen, P. T. T. Huong, N. X. Nhiem, D. C. Thung, D. T. Thao, N. T. Hoai, P. V. Kiem. Conjugated polyene ketones from the marine sponge *Clathria (Thalysias) reinwardti* (Vosmaer, 1880) and their cytotoxic activity, *Nat. Prod. Commun.*, **2021**, *16*, 1934578X211043732.

17. D. T. T. Hang, D. C. Thung, D. T. Trang, P. H. Yen, N. T. Cuc, D. T. Dung, B. H. Tai, N. X. Nhiem, P. V. Kiem. Chemical constituents of marine sponge *Ianthella basta* (Pallas, 1766), *Vietnam J. Chem.*, **2022**, *60*, 238-244.

18. D. T. Trang, D. T. T. Hang, D. T. Dung, N. A. Bang, P. T. T. Huong, P. H. Yen, B. H. Tai, N. T. Cuc, D. H. An, N. X. Nhiem, D. C. Thung, P. V. Kiem. Chemical constituents of *Clathria reinwardti*, *Vietnam J. Chem.*, **2022**, *60*, 21-26.

19. D. T. Trang, B. H. Tai, D. T. T. Hang, P. H. Yen, N. X. Nhiem, P. V. Kiem. Four new aaptamine alkaloids from marine sponge *Aaptos aaptos*, *Nat. Prod. Res.*, **2022**, *36*, 5022-5031.

20. D. T. Trang, B. H. Tai, D. T. T. Hang, P. H. Yen, P. T. T. Huong, N. X. Nhiem, P. V. Kiem. Chemical constituents of the marine sponge *Aaptos aaptos* (Schmidt, 1864) and their cytotoxic activity, *Nat. Prod. Commun.*, **2021**, *16*, 1934578X21993345.

21. N. T. Ngoc, T. T. H. Hanh, N. V. Thanh, N. X. Cuong, N. H. Nam, D. C. Thung, P. V. Kiem, C. V. Minh. Briarane-type diterpenoids from the Vietnamese gorgonian *Junceella fragilis*, *Nat. Prod. Res.*, **2020**, *34*, 385-389.

22. T. N. Ninh, T. T. H. Hanh, T. H. Quang, N. X. Cuong, N. H. Nam, T. T. Do, P. V. Cuong, D. C. Thung, P. V. Kiem, C. V. Minh. Cembranoids from the Vietnamese soft coral *Sarcophyton ehrenbergi*, *Nat. Prod. Res.*, **2022**, *36*, 5517-5523.

23. N. T. Ngoc, T. T. H. Hanh, T. H. Quang, N. X. Cuong, N. H. Nam, D. T. Thao, D. C. Thung, P. V. Kiem, C. V. Minh. Polyhydroxylated steroids from the Vietnamese soft coral *Sarcophyton ehrenbergi*, *Steroids*, **2021**, *176*, 108932.

24. N. T. Ngoc, T. T. H. Hanh, N. H. Dang, T. H. Quang, N. X. Cuong, N. H. Nam, D. C. Thung, N. D. Ngai, P. V. Kiem, C. V. Minh. Bicyclic lactones from the octocoral *Dendronephthya mucronata*, *Nat. Prod. Res.*, **2021**, *35*, 1134-1138.

25. L. Hoang, L. T. Vien, T. T. H. Hanh, N. V. Thanh, N. X. Cuong, N. H. Nam, D. C. Thung, N. V. Ivanchina, D. T. Thao, P. S. Dmitrenok, A. A. Kicha, P. V. Kiem, C. V. Minh. Triterpene glycosides from the Vietnamese sea cucumber *Holothuria edulis*, *Nat. Prod. Res.*, **2020**, *34*, 1061-1067.

26. L. T. Vien, T. T. H. Hanh, T. H. Quang, N. V. Thanh, D. T. Thao, N. X. Cuong, N. H. Nam, D. C. Thung, P. V. Kiem. Triterpene tetraglycosides from *Stichopus herrmanni* Semper, 1868, *Nat. Prod. Commun.*, **2022**, *17*, 1934578X221105369.

27. L. T. Vien, T. T. H. Hanh, T. H. Quang, N. V. Thanh, N. X. Cuong, N. H. Nam. Herrmananes A and B, two new sulfated hydrocarbons from the sea cumber *Stichopus herrmanni*, *Vietnam J. Chem.*, **2022**, *60*, 685-687.

28. L. T. Vien, T. T. H. Hanh, T. H. Quang, N. X. Cuong, D. T. Thao, N. H. Nam, D. C. Thung, P. V. Kiem, C. V. Minh. Polyhydroxylated steroid derivatives from the starfish *Pentaceraster regulus*, *Nat. Prod. Res.*, **2022**, *36*, 2223-2229.

29. L. T. Vien, T. T. H. Hanh, T. H. Quang, N. V. Thanh, N. X. Cuong, N. H. Nam, D. C. Thung, P. V. Kiem. Asterosaponins from the starfish *Protoreaster nodosus*, *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **2023**, *25*, 1229-1235.

30. L. T. Vien, T. T. H. Hanh, T. H. Quang, D. T. Thao, D. C. Thung, N. X. Cuong, N. H. Nam, P. V. Cuong, P. V. Kiem, C. V. Minh. Naphthopyrone and anthraquinone derivatives from *Comanthus delicata*, *Phytochem. Lett.*, **2021**, *46*, 129-135.

31. L. T. Vien, T. T. H. Hanh, T. H. Quang, D. C. Thung, N. X. Cuong, N. H. Nam, P. V. Cuong, P. V. Kiem, C. V. Minh. Sulfated Naphthopyrones and anthraquinones from the Vietnamese crinoid *Comanthus delicata*, *Chem. Pharm. Bull.*, **2022**, *70*, 408-412.

32. P. T. M. Huong, N. V. Phong, N. P. Thao, P. T. Binh, D. T. Thao, N. V. Thanh, N. X. Cuong, N. H. Nam, D. C. Thung, C. V. Minh. Dendrodoristerol, a cytotoxic C20 steroid from the Vietnamese nudibranch mollusk *Dendrodoris fumata*, *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **2020**, *22*, 193-200.

33. P. T. M. Huong, N. V. Phong, N. T. Huong, D. T. Trang, D. T. Thao, N. X. Cuong, N. H. Nam, N. V. Thanh. Aplydactylonins A-C, three new sesquiterpenes from the Vietnamese sea hare *Aplysia dactylomela* and their cytotoxicity, *J. Nat. Med.*, **2022**, *76*, 210-219.

34. P. T. Binh, D. T. Trang, N. P. Thao, N. C. Mai, N. X. Cuong, N. H. Nam, N. Van Thanh. Structure elucidation of new brominated sesquiterpenes from the sea hare *Aplysia dactylomela* by experimental and DFT computational methods, *J. Mol. Struct.*, **2022**, *1259*, 132744.

35. P. T. Binh, D. T. Trang, V. T. Trung, K. T. P. Linh, N. V. Phong, N. P. Thao, N. X. Cuong, D. C. Thung, N. H. Nam, N. V. Thanh. New nor-chamigrane and bisabolane sesquiterpenoids from the sea hare *Aplysia dactylomela*, *Phytochem. Lett.*, **2023**, *53*, 92-97.

36. P. T. Binh, K. T. P. Linh, V. T. Trung, V. T. Quyen, N. V. Phong, N. P. Thao, D. C. Thung, N. H. Huy, N. H. Nam, N. Van Thanh. Structural elucidation of two new polypropionates from the marine slug *Paromoionchis tumidus* by spectroscopic analyses and DFT calculations, *J. Mol. Struct.*, **2023**, *1277*, 134841.

37. N. V. Thanh, N. P. Thao, N. V. Phong, N. X. Cuong, N. H. Nam, C. V. Minh. A new [7.7]paracyclophane from Vietnamese marine snail *Planaxis sulcatus* (Born, 1780), *Nat. Prod. Res.*, **2020**, *34*, 261-268.

38. K. T. P. Linh, N. V. Phong, P. T. Binh, N. P. Thao, D. C. Thung, N. H. Nam, N. V. Thanh. Structural determination of new metabolites from the sea snail *Turbo chrysostomus* by NMR and DFT calculation, *J. Mol. Struct.*, **2022**, *1270*, 133881.

39. N. T. Dan, L. T. Giang, N. D. Cu, T. B. Hai, N. D. Hoi, V. T. Loan, D. T. T. Hang, N. X. Nhiem, B. H. Tai, P. V. Kiem. Two new sterol sulfates from marine spider conch *Lambis Lambis* Linnaeus, 1758, *Nat. Prod. Commun.*, **2022**, *17*, 1934578X221113184.

40. N. T. Dan, L. T. Giang, N. D. Cu, T. B. Hai, N. D. Hoi, V. T. Loan, D. T. T. Hang, N. X. Nhiem, B. H. Tai, P. V. Kiem. Chemical Constituents of *Tectus maximus* Koch, 1844, *Rec. Nat. Prod.*, **2023**, *17*, 329-334.

41. D. D. Cao, T. Q. Do, D. T. M. Huong, V. T. Quyen, N. M. Anh, L. T. H. Minh, T. D. Thach, C. V. Minh, D. C. Thung, P. V. Cuong. Antimicrobial lavandulylated flavonoids from a sponge-derived actinomycete, *Nat. Prod. Res.*, **2020**, *34*, 413-420.

42. P. T. Dao, D. T. M. Huong, C. D. Danh, V. T. Quyen, N. M. Anh, L. T. H. Minh, T. D. Thach, C. V. Minh, P. V. Cuong. Novel 1,3-benzodioxole from marine-derived actinomycete in East Vietnam sea, *Nat. Prod. Commun.*, **2020**, *15*, 1934578X20920042.

43. V. T. Quyen, L. T. H. Minh, V. T. T. Huyen, N. M. Anh, N. T. Hue, P. T. Dao, N. T. Linh, P. V. Cuong, D. T. M. Huong. Antimicrobial secondary metabolites from the marine-derived actinomycete *Nocardiopsis synnemataformans* HT06, *Chem. Nat. Comp.*, **2022**, *58*, 704-707.

44. D. T. Quynh, T. T. T. Van, N. T. Linh, L. T. H. Minh, V. T. Quyen, B. T. Murphy, D. T. M. Huong, P. V. Cuong. A new alkaloid from marine-derived actinomycete *Actinoalloteichus cyanogriseus* G631, *Rec. Nat. Prod.*, **2023**, *17*, 1024-1030.

45. C. D. Tuan, N. V. Hung, L. T. H. Minh, H. T. H. Lien, J. W. Chae, H. Y. Yun, Y. H. Kim, P. V. Cuong, D. T. M. Huong. A new indole glucoside and other constituents from the sea cucumber-derived *Aspergillus fumigatus* M580 and their biological activities, *Rec. Nat. Prod.*, **2022**, *16*, 633-638.

46. N. T. H. Anh, N. M. Anh, V. T. T. Huyen, P. T. Dao, D. T. M. Huong, P. V. Cuong, D. T. Xuan, B. H. Tai, L. T. H. Minh, P. V. Kiem. Antimicrobial activity of depsidones and macrocyclic peptides isolated from marine sponge-derived fungus *Aspergillus nidulans* M256, *Chem. Biodivers.*, **2023**, *20*, e202301660.

47. N. T. Ngoc, T. H. Quang, T. T. H. Hanh, N. X. Cuong, V. T. Quyen, N. T. T. Ngan, D. V. Ha, N. H. Nam, C. V. Minh. Cytotoxic and antimicrobial metabolites from the marine-derived fungus *Aspergillus* sp. OPR23-FS01, *Phytochem. Lett.*, **2024**, *61*, 29-34.

48. N. T. H. Anh, D. T. Q. Quynh, N. T. Linh, L. T. H. Minh, N. M. Anh, B. T. Murphy, T. X. Dam, D. T. M. Huong, P. V. Cuong. New sesterterpenoid from the marine fungus *Penicillium oxalicum* M893, *Nat. Prod. Commun.*, **2023**, *18*, 1934578X231191636.

49. P. V. Cuong, N. T. Hue, N. T. Linh, N. M. Anh, V. T. Quyen, V. T. T. Huyen, L. T. H. Minh, D. T. M. Huong. Antimicrobial activities of a new alkaloid from marine-derived fungus, *Penicillium* sp. OM01, *Nat. Prod. Commun.*, **2024**, *19*, 1934578X241250204.

50. L. T. H. Minh, N. M. Anh, V. T. T. Huyen, V. T. Quyen, P. T. Dao, D. T. M. Huong, P. V. Cuong, C. D. Tuan, P. V. Kiem, B. H. Tai. A pair of undescribed alkaloid enantiomers

from marine sponge-derived fungus *Hamigera avellanea* and their antimicrobial and cytotoxic activities, *Chem. Biodivers.*, **2023**, *20*, e202301425.

51. T. H. Quang, N. V. Phong, T. T. H. Hanh, N. X. Cuong, N. T. T. Ngan, H. Oh, N. H. Nam, C. V. Minh. Cytotoxic and immunomodulatory phenol derivatives from a marine sponge-derived fungus *Ascomycota* sp. VK12, *Nat. Prod. Res.*, **2021**, *35*, 5153-5159.
52. N. T. T. Thuy, H. T. M. Hien, N. C. Ha, L. T. Thom, D. D. Hong, N. V. Thinh, N. T. Dan, N. D. Hoi, V. T. Loan, H. D. Quang, D. T. T. Hang, P. V. Kiem, N. T. Dat, N. X. Nhiem. Chemical constituents from the marine microalgae *Thraustochytrium pachydermum*, *Nat. Prod. Commun.*, **2023**, *18*, 1934578X231157145.
53. N. T. T. Thuy, H. T. M. Hien, N. C. Ha, L. T. Thom, D. D. Hong, N. V. Thinh, N. T. Dan, N. D. Hoi, V. T. Loan, H. D. Quang, D. T. T. Hang, P. V. Kiem, B. H. Tai, N. T. M. Hang, N. T. Dat, N. X. Nhiem. Chemical constituents from the heterotrophic marine microalgae *Aurantiochytrium* sp. SC145 and their antimicrobial activities, *Nat. Prod. Res.*, **2024**, *38*, 789-795.
54. T. H. Giap, V. M. Thao, N. T. T. Oanh, H. T. Thoa, D. D. Hong, N. T. H. Thu, L. T. Thom, N. C. Ha, N. T. M. Hang. Secondary metabolites from *Thraustochytrium aureum* and their biological activity, *Rec. Nat. Prod.*, **2022**, *16*, 493-498.
55. V. M. Thao, T. H. Giap, N. T. T. Oanh, H. T. Thoa, D. D. Hong, H. T. M. Hien, L. T. Thom, N. C. Ha, N. T. M. Hang. Secondary metabolites of marine microalga *Schizochytrium limacinum*, *Chem. Nat. Comp.*, **2022**, *58*, 1177-1180.

Liên hệ: **Phạm Văn Cường**
Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: phamvc@imbc.vast.vn.

THÀNH TÍCH HOẠT ĐỘNG KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CỦA VIỆN HÓA HỌC CÁC HỢP CHẤT THIÊN NHIÊN (GIAI ĐOẠN 2020-2024)

Phạm Thị Hồng Minh*, Phạm Minh Quân, Nguyễn Mạnh Cường, Đỗ Hữu Nghị, Phạm Quốc Long*

Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày gửi bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Ngày 05/3/1990, Chủ tịch Hội đồng Bộ trưởng (nay là Thủ tướng Chính phủ) đã ký Quyết định số 65/CT thành lập Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên, trực thuộc Viện Khoa học Việt Nam (nay là Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam).

Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên là tổ chức sự nghiệp khoa học thực hiện chức năng nghiên cứu cơ bản, điều tra cơ bản, phát triển công nghệ và đào tạo nguồn nhân lực có trình độ cao trong lĩnh vực hoá học các hợp chất thiên nhiên và các lĩnh vực khác có liên quan theo quy định pháp luật.

Trong 5 năm qua, thực hiện chức năng và nhiệm vụ được quy định, Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên (Viện) đã luôn hoàn thành và đạt được những thành tựu nổi bật trong hoạt động khoa học công nghệ, hợp tác quốc tế và xuất bản, đóng góp quan trọng vào sự phát triển KHCN của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (Viện Hàn lâm) cụ thể:

1. Số lượng nhiệm vụ Khoa học và Công nghệ đã thực hiện

Từ năm 2020-2024, Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên đã chủ trì thành công tổng cộng:

- 167 nhiệm vụ KHCN từ cấp Viện Hàn lâm trở lên, trong đó có 52 nhiệm vụ KHCN cấp Quốc gia và 115 nhiệm vụ khoa học cấp bộ, ngành, địa phương và cấp Viện Hàn lâm.

- Nhiều sáng chế nổi bật như quy trình chiết xuất polyphenol từ quả me rừng (2021), thu hồi lignin từ rơm rạ (2024) và tạo hạt liposom dạng nano (2024).

2. Công bố khoa học

Trong thời gian qua Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên luôn giữ vị trí top 10 trong các Viện chuyên ngành thuộc Viện Hàn lâm về hiệu quả công bố khoa học tính trên số lượng biên chế của Viện. Thống kê giai đoạn 5 năm từ 2020-2024, Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên đã có nhiều công bố quốc tế và trong nước theo 5 hướng nghiên cứu chính với 471 bài báo khoa học, trong đó có 307 bài báo đạt chuẩn SCIE, 16 sách chuyên khảo/giáo trình, 19 sáng chế/GPHI, ngoài ra còn có 164 bài báo trong nước và hội nghị khoa học quốc gia**,** góp phần nâng cao uy tín học thuật quốc tế. Cụ thể:

a) Hướng nghiên cứu tách chiết, tổng hợp hữu cơ

Hướng nghiên cứu phân lập và tổng hợp hữu cơ là một trong những hướng nghiên cứu truyền thống và thế mạnh của Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên. Các nhà khoa học của Viện đã tập trung vào việc phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học từ các nguồn tài nguyên thiên nhiên của Việt Nam. Đồng thời, Viện cũng đẩy mạnh nghiên cứu tổng hợp các hợp chất hữu cơ có tiềm năng ứng dụng trong y dược, nông nghiệp

và công nghiệp. Kết quả của các nghiên cứu này đã được công bố trên nhiều tạp chí khoa học uy tín trong và ngoài nước, góp phần nâng cao vị thế của Viện và ngành hóa học Việt Nam trên bản đồ khoa học thế giới. Cụ thể, trong giai đoạn 5 năm từ 2020 đến 2024, Viện đã đạt được nhiều thành tích đáng kể trong lĩnh vực nghiên cứu và công bố khoa học bao gồm: 9 sách chuyên khảo/giáo trình, 14 giải pháp hữu ích, 3 sáng chế, 88 bài báo đạt chuẩn SCIE, 57 bài báo trong nước và hội nghị khoa học quốc gia.

b) Hướng nghiên cứu hóa học lipid

Hướng nghiên cứu hóa học lipid là một trong những hướng nghiên cứu đặc thù và nổi bật của Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên. Dựa trên sự hợp tác chặt chẽ với các đối tác quốc tế uy tín Nga và Đức. Các nhà khoa học của Viện đã tập trung vào việc nghiên cứu thành phần, hàm lượng lipid và axit béo từ các đối tượng sinh vật biển và hạt thực vật Việt Nam và thử nghiệm hoạt tính sinh học của các hợp chất, cũng như phát triển các phương pháp phân tích lipid tiên tiến. Viện đã triển khai thành công nhiều đề tài, dự án quan trọng, khẳng định vị thế là đơn vị hàng đầu tại Việt Nam và có uy tín lớn trên trường quốc tế trong lĩnh vực này. Trong giai đoạn 5 năm từ 2020-2024, Viện đã đạt được nhiều thành tựu đáng kể trong nghiên cứu và công bố khoa học về hóa học lipid bao gồm: 1 sách chuyên khảo/giáo trình, 1 giải pháp hữu ích, 1 sáng chế, 55 bài báo đạt chuẩn SCIE, 42 bài báo trong nước và hội nghị khoa học quốc gia. Đáng chú ý, kết quả nổi bật trong giai đoạn này, có 01 sách chuyên khảo đạt Giải B về Giải thưởng Sách quốc gia năm 2019: *"Lipid từ hạt một số loài thực vật Việt Nam"* ISBN 978-604-913-744-0 (từ đề tài NĐT hợp tác với CHLB Đức) và 2 bằng khen danh dự của Phân viện Viễn Đông, Viện HKLH Liên bang Nga (2019, 2024) tặng cho GS.TS. Phạm Quốc Long về đóng góp cho hướng nghiên cứu lipid sinh vật biển trong các chuyến khảo sát trên tàu "VS. Oparine" trên vùng biển Việt Nam.

c) Hướng nghiên cứu định hướng ứng dụng

Hướng nghiên cứu định hướng ứng dụng cũng là một trong những thế mạnh nổi bật của Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên trong nhiều năm qua. Xuất phát từ việc nghiên cứu các nguồn tài nguyên thiên nhiên phong phú, các nhà khoa học của Viện đã tập trung vào việc phát triển các sản phẩm mới từ nguồn nguyên liệu thiên nhiên, đồng thời nghiên cứu cải tiến các quy trình sản xuất để nâng cao hiệu quả và chất lượng sản phẩm. Từ đó, Viện đã thành công trong việc chuyển giao nhiều kết quả nghiên cứu vào thực tiễn, tạo ra các sản phẩm có giá trị như thực phẩm chức năng, sản phẩm ứng dụng trong nông nghiệp và nhiều lĩnh vực khác phục vụ đời sống xã hội. Trong giai đoạn 5 năm từ 2020 đến 2024, Viện đã đạt được những thành tựu đáng kể trong nghiên cứu và công bố khoa học bao gồm: 3 sách chuyên khảo/giáo trình, 4 giải pháp hữu ích, 2 sáng chế, 38 bài báo đạt chuẩn SCIE, 13 bài báo trong nước và hội nghị khoa học quốc gia.

d) Hướng nghiên cứu hóa môi trường

Hướng nghiên cứu hóa môi trường là một trong những mũi nhọn quan trọng của Viện. Nhóm nghiên cứu hóa môi trường của Viện được đánh giá là một trong những nhóm xuất sắc của Viện Hàn lâm, với nhiều thành tựu nổi bật trong các lĩnh vực liên quan đến ô nhiễm môi trường, xử lý chất thải,… Viện cũng đã nhận được tài trợ từ nhiều dự án quốc tế và tổ chức thành công nhiều hội nghị quốc tế như APN, NAFOSTED,… góp phần khẳng định tên tuổi và uy tín của Viện trên trường quốc tế. Trong giai đoạn 5 năm từ 2020-2024, các nhà khoa học của Viện đã công bố nhiều bài báo trên các tạp chí quốc tế uy tín hàng đầu, có chỉ số trích dẫn cao bao gồm: 1 sách chuyên khảo/giáo trình, 74 bài báo đạt chuẩn SCIE, 40 bài báo trong nước và hội nghị khoa học quốc gia.

e) Hướng nghiên cứu in silico tìm kiếm, phát triển thuốc mới

Hướng nghiên cứu *in silico* tìm kiếm và phát triển thuốc mới là một trong những hướng nghiên cứu tiên phong và quan trọng của Viện trong bối cảnh cuộc Cách mạng công nghiệp 4.0. Nhóm nghiên cứu của Viện đã nhanh chóng hội nhập với xu hướng khoa học quốc tế, áp dụng các công cụ nghiên cứu hiện đại như mô phỏng phân tử, học máy và trí tuệ nhân tạo để sàng lọc, dự đoán và phát triển các hoạt chất tiềm năng trong lĩnh vực dược phẩm. Các kết quả nghiên cứu này đã góp phần nâng cao năng lực nghiên cứu của Viện. Trong giai đoạn 5 năm từ 2020-2024, Viện đã đạt được những thành tựu đáng kể trong nghiên cứu và công bố khoa học. Các nhà khoa học của Viện đã công bố nhiều bài báo trên các tạp chí quốc tế uy tín, có chỉ số trích dẫn cao bao gồm: 2 sách chuyên khảo/giáo trình, 52 bài báo đạt chuẩn SCIE, 12 bài báo trong nước và hội nghị khoa học quốc gia.

3. Hợp tác quốc tế

Tiếp tục phát huy quan hệ song phương với các đối tác truyền thống, Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên đã ký kết 15 thỏa thuận hợp tác nghiên cứu khoa học với các đối tác từ Đức, Nga, Hàn Quốc và nhiều quốc gia khác. Tổ chức thành công 5 hội thảo quốc tế và đón tiếp nhiều đoàn khách quốc tế đến làm việc và trao đổi học thuật.

Các hợp tác quốc tế mới xây dựng như: Mông Cổ, Cu Ba, Ba Lan, Cộng hòa Séc, Trung Quốc sẽ mở ra các hướng hợp tác mới cập nhật xu hướng phát triển hiện đại trên thế giới như: Công nghệ sinh học, Công nghệ nano, Công nghệ kĩ thuật số,…

4. Xây dựng tiềm lực khoa học

Đầu tư cơ sở vật chất: Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên đã thực hiện dự án sửa chữa cải tạo trụ sở làm việc năm 2019, sửa chữa nâng cấp hệ thống phòng cháy chữa cháy năm 2021 tạo cơ sở vật chất khang trang, môi trường làm việc an toàn, góp phần nâng cao chất lượng nghiên cứu khoa học ở Viện Hàn lâm.

Trong giai đoạn 2020-2024, Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên đã triển khai tổng cộng 30 nhiệm vụ NCVCC, bao gồm các nhiệm vụ loại A và loại B, với tổng kinh phí hàng chục tỷ đồng. Đáng chú ý, các nhiệm vụ không chỉ tập trung vào việc phát huy năng lực nghiên cứu cá nhân các nhà khoa học có trình độ cao, mà còn hỗ trợ mạnh mẽ cho việc đào tạo và phát triển đội ngũ nghiên cứu trẻ thông qua việc tham gia các hội thảo quốc tế, trao đổi khoa học với đối tác nước ngoài và thực hiện các dự án hợp tác chiến lược.

Điều này đã giúp Viện không ngừng khẳng định vị thế trong lĩnh vực hóa học các hợp chất thiên nhiên, đồng thời tạo nền tảng vững chắc cho các thế hệ nghiên cứu viên kế cận.

Viện đã đào tạo và bảo vệ thành công cho hơn 30 nghiên cứu sinh thuộc 2 mã số chuyên ngành là: Hóa học các HCTN, mã số: 9440117; và Kĩ thuật hóa học, mã số: 9520301.

5. Kết quả ứng dụng

Từ các kết quả hoạt động KHCN, Viện đã đăng kí và được cấp 22 bằng sáng chế và giải pháp hữu ích, với các quy trình công nghệ nổi bật có tiềm năng ứng dụng thực tiễn cao trong công nghiệp và đời sống.

Những thành tựu này thể hiện nỗ lực không ngừng của Viện trong việc nâng cao năng lực nghiên cứu, ứng dụng, và hợp tác quốc tế, đóng góp quan trọng vào sự phát triển bền vững của khoa học công nghệ Việt Nam.

6. Kết quả khen thưởng

- Giải thưởng Kovalevskaia năm 2020 cho Tập thể nữ cán bộ Viện Hoá học các hợp chất thiên nhiên với lĩnh vực nghiên cứu chính: Nghiên cứu các chất có hoạt tính sinh học có nguồn gốc thiên nhiên (thực vật, sinh vật biển, vi sinh vật) và ứng dụng triển vào thực tế đời sống (Quyết định số 5752/QĐ-ĐCT_UBGT ngày 23 tháng 2 năm 2021).

- Bằng khen của Bộ Khoa học và Công nghệ năm 2021 cho thành viên thực hiện nhiệm vụ mã số KC 09.23/16-20 thuộc Chương trình KH&CN trọng điểm cấp Quốc gia giai đoạn 2016-2020 đã có kết quả nghiên cứu, đóng góp cho sự nghiệp phát triển KHCN: Trần Quốc Toàn, Phạm Minh Quân, Hoàng Thị Bích, Đỗ Hữu Nghị, Cầm Thị Ính, Đặng Việt Anh, Phạm Quốc Long (Quyết định số 3233/QĐ-BKHCN ngày 09/12/2021).

- Học bổng khoa học cấp quốc gia của L'ORÉAN-UNESCO năm 2022 cho PGS.TS. Lê Minh Hà "Vì sự phát triển phụ nữ trong khoa học".

- Bằng khen của Chủ tịch Viện HLKHCNVN năm 2023 cho tập thể và cá nhân đã có thành tích xuất sắc trong "Học tập và làm theo tư tưởng đạo đức, phong cách Hồ Chí Minh giai đoạn 2021-2023" đối với Chi uỷ viên Phạm Minh Quân (Quyết định số 994/QĐ-VHL ngày 07/6/2023).

- Bằng khen của Hội nữ trí thức Việt Nam năm 2023 cho nữ khoa học trẻ có thành tích xuất sắc trong nghiên cứu khoa học 2022-2023 đối với Đặng Ngọc Phượng, Hoàng Kim Chi, Đặng Thị Phương Ly, Trần Thị Tuyến (Quyết định số 45/QĐKT-BTV ngày 01/11/2023).

- Bằng khen quốc tế của Chủ tịch Phân viện Viễn Đông năm 2024, Viện Hàn lâm Khoa học Nga cho GS.TS. Phạm Quốc Long đối với đóng góp lâu dài cho sự hợp tác khoa học Nga - Việt và tôn vinh nhân dịp kỷ niệm 300 năm ngày thành lập Viện Hàn lâm Khoa học Nga.

7. Định hướng phát triển trong thời gian tới

a) Sau khi hội nhập với Viện Hóa học, củng cố tổ chức và tiếp tục duy trì các kết quả đạt được, tập chung bảo tồn và phát triển các hướng nghiên cứu chính chuyên ngành cấp quốc gia của hợp chất thiên nhiên về điều tra sàng lọc các chất có hoạt tính sinh học từ nguyên liệu trên cạn, dưới biển, vi sinh vật, mở rộng đối tượng nghiên cứu tài nguyên thiên nhiên phù hợp trong thời kỳ biến đổi khí hậu toàn cầu. Tăng cường đầu tư trang thiết bị chiều sâu phục vụ cho nghiên cứu tách chiết, phân tích cấu trúc các hoạt chất và thử nghiệm hoạt tính sinh học hiện đại cập nhật quốc tế.

b) Tiếp tục cập nhật và xây dựng các phương pháp tách chiết và thử nghiệm sinh học mới, phân tích và xử lý số liệu cho phù hợp với sự phát triển vũ bão của công nghệ thông tin. Đẩy mạnh phát triển hướng nghiên cứu hiện đại (*in silico*) trong nghiên cứu sàng lọc các hợp chất thiên nhiên Việt Nam, khai thác ảnh hưởng tích cực của Cách mạng 4.0/5.0, thời đại kỹi thuật số hóa trong lĩnh vực chuyên ngành Hợp chất thiên nhiên và hội nhập quốc tế.

c) Tiếp tục phát huy truyền thống nghiên cứu ứng dụng triển khai các kết quả khoa học vào thực tiễn, tập chung phát triển mảng công nghệ hóa học phù hợp xu thế hiện nay, bao gồm các nội hàm: công nghệ mới, cải tiến công nghệ (*Innovation*), nghiên cứu tối ưu các quy trình công nghệ, chế tạo thiết bị,… nhằm tăng cường chất lượng và hiệu quả các nghiên cứu ứng dụng và triển khai vào cuộc sống phục vụ cho các lĩnh vực y, dược, nông nghiệp, thủy sản, công nghệ sau thu hoạch, công nghệ thực phẩm,… Tập trung phát triển lĩnh vực Tinh dầu - Hương liệu - Mỹ phẩm, phát huy truyền thống sẵn có của Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên và tiềm năng các vùng nguyên liệu phong phú cây tinh dầu của Việt Nam.

d) Củng cố và tăng cường chất lượng các công bố quốc tế, quốc gia, sở hữu trí tuệ; duy trì công tác đào tạo sau đại học cho hai mã số chuyên ngành: Hóa học các hợp chất thiên nhiên và Kỹ thuật hóa học. Mở rộng hợp tác quốc tế để hội nhập và tăng cường nội lực trên các hình thức khác nhau.

5) Tập trung xây dựng và nuôi dưỡng lực lượng cán bộ nghiên cứu khoa học trẻ có trình độ chuyên môn, có năng lực hội nhập quốc tế nhằm tạo nguồn nhân lực kế cận cho giai đoạn phát triển tiếp theo của Viện đến năm 2030, tầm nhìn năm 2045.

Ảnh minh họa: Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên (1970-2025)

Liên hệ: **Phạm Quốc Long**
Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: mar.biochem@fpt.vn.

Phạm Thị Hồng Minh
Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: pthminh@inpc.vast.vn.

STUDY OVERVIEW AT INSTITUTE OF CHEMICAL TECHNOLOGY 2020-2024

Hoang Thi Kim Dung

Institute of Chemical Technology - Vietnam Academy of Science and Technology
1A, TL29, Thanh Loc ward, District 12, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 10 Feb 2025; Revised 20 Feb 2025; Accepted 1 Mar 2025

Abstract

Over the past 30 years, the Institute of Chemical Technology (ICT) - Vietnam Academy of Science and Technology (VAST) has continuously advanced to meet the evolving demands of scientific development in Vietnam. The research capabilities have steadily increased, as evidenced by the significant growth in both the quantity and quality of scientific publications over the past five years, despite external challenges such as the COVID-19 pandemic. In this overview, we present the Institute's primary research directions in two key areas including bioactive organic compounds and bioactive materials, highlighting high-quality studies conducted by ICT researchers.

Keywords: Institute of Chemical Technology, VAST, overview, scientific reports.

1. INTRODUCTION

The Institute of Chemical Technology (ICT) was established in 1993, evolving from the Ho Chi Minh City Institute of Chemistry under Decree No. 14/CP dated May 2, 1993, issued by the Government, and Decision No. 90/KHCNQG-QĐ dated July 1, 1993, from the National Center of Natural Sciences and Technology. On February 15, 2004, the President of the Vietnam Institute of Science and Technology issued Decision No. 01/QĐ-KHCNVN, officially transferring ICT from the National Center of Natural Sciences and Technology Vietnam Institute of Science and Technology. Subsequently, on February 19, 2013, Decision No. 48/QĐ-VHL was issued by the President of the Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), transitioning ICT to operate directly under VAST.

The primary mission encompasses fundamental research, technological development, application deployment, pilot production, and the training of professionals in the fields of chemical technology, biochemistry, agricultural chemistry, pharmaceutical chemistry, environmental sciences, and other related scientific domains as stipulated by law.

The ICT's research programs have received funding from various public institutions, including projects under the National Foundation for Science and Technology Development (NAFOSTED) and initiatives supported by VAST, such as independent young researcher projects, the eight prioritized scientific directions, senior researcher support missions, pilot production projects, technological development tasks, and the development of excellent research groups. Additionally, ICT has collaborated on research projects with local authorities and organizations in provinces such as Đak Lak province, Long An province, Ho Chi Minh City and etc.

2. SCIENCE REPORTS

The total number of publications by the Institute over the past five years amounts to 317, including international journal articles indexed in SCIE/Scopus (269 articles), domestic journal articles (36 articles), and intellectual property registrations (12 works). The data are illustrated in Figure 1. The number of articles published in SCIE/Scopus-indexed journals

increased from 46 in 2020 to 71 in 2024 (over 1.5 times). In contrast, the number of domestic publications and intellectual property registrations remained relatively stable (Figure 1A). The results were similarly calculated for the number of publications per researcher. The average number of international journal articles per researcher during 2021-2023 was approximately 0.8, which rose to around 1.2 in 2024. This sharp increase in 2024 may be attributed to the equipment investment project implemented from 2021 to 2023.

The quality of publications in SCIE/Scopus journals has also improved significantly. The number of articles published in Q1 journals (as ranked by Scimago) increased from 22 in 2020 to 27 in 2023 and further surged to 40 in 2024 - nearly double the previous figures. Meanwhile, the number of publications in Q2–Q4 journals showed minimal changes (Figure 1C). Analyzing publications based on impact factor (IF) reveals notable differences over the past two years. Articles with an IF between 2 and 4 increased from 20 in 2020 to 30 in 2024 and particularly remarkable is the substantial rise in publications with an IF > 5, averaging around 18 articles per year in two recent years (Figure 1D). This result highlights that, despite the challenges faced during the COVID-19 pandemic, the research groups in ICT demonstrated resilience and continuous growth, ultimately achieving these significant outcomes.

Currently, the Institute comprises approximately 60 researchers organized into various research groups and actively engaged in diverse fields, including: (1) heterocyclic compounds for pharmaceutical applications; (2) insect attractants; (3) bioactive natural compounds; (4) biomedical polymer materials; and (5) bioactive metal nanomaterials.

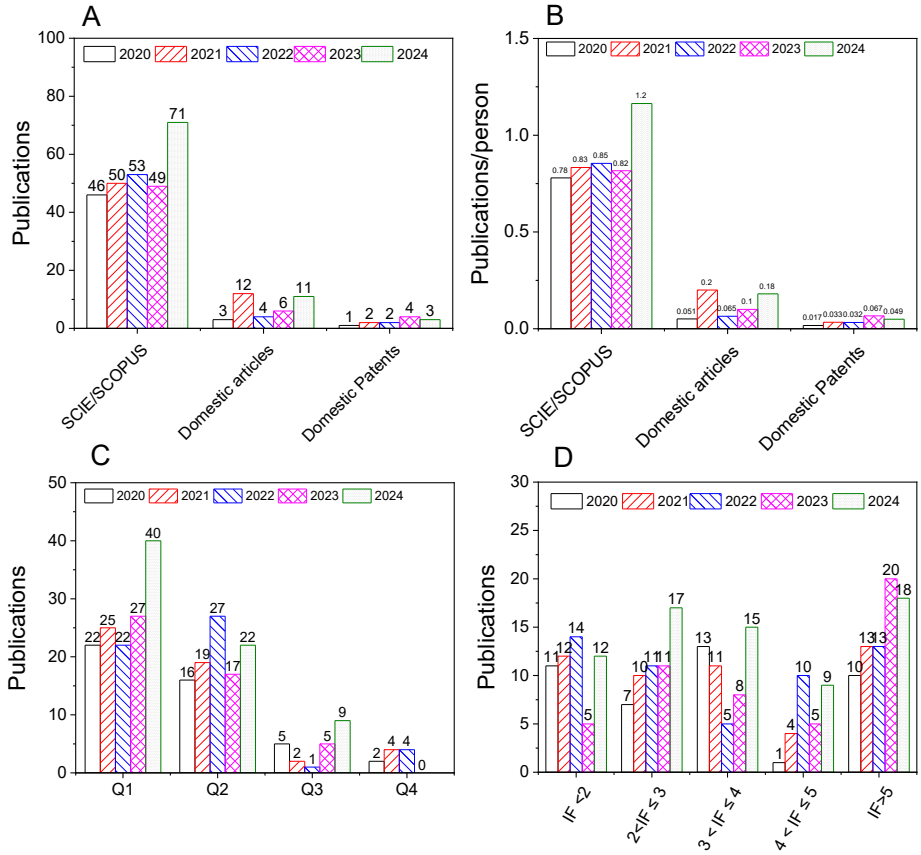


Figure 1. Data on scientific outputs from 2020 to 2024, including: (A) total counts of publications, including articles indexed in SCIE/Scopus, domestic articles, and domestic patents; (B) publication output per researcher; (C) classification of publications based on Scimago rankings (Q1-Q4); and (D) classification of publications by impact factor (IF)

3. MAJOR STUDIES ON BIOACTIVE COMPOUND AND MATERIAL APPROACHES

3.1. Heterocyclic compounds in pharmaceutical applications

Discovering and developing new drugs is a critical endeavor in pharmaceutical and biomedical sciences. Among the key strategies, structural design and organic synthesis play a fundamental role in identifying novel compounds with superior therapeutic potential compared to existing drugs. Furthermore, heterocyclic compounds with unique structures, fluorescence properties, and strong binding affinity to cancer cells have shown significant promise in bioimaging applications.

In the context of synthesizing heterocyclic compounds for biomedical applications, sulphonamide derivatives based on the pyrazoline framework have been developed as potential anti-inflammatory, anticancer, and antibiotic agents.[1] A total of twentysix 1,3,5-substituted pyrazoline sulphonamide derivatives were synthesized and evaluated against Hep-2C uterine cancer and A549 lung cancer cell lines. Among them, six compounds containing methyl, hydroxyl, and methoxyl groups on the benzene ring exhibited potent cytotoxicity against these cancer cell lines while demonstrating safety for normal cells. Additionally, five derivatives were identified with strong anti-inflammatory activity through *in vivo* testing on mice.

In another publication, 2-phenylbenzimidazoles were synthesized under mild conditions using sodium metabisulfite as an oxidizing agent or reduction with sodium borohydride.[2] These compounds were tested for their *in vitro* anticancer activity against three human cancer cell lines. A novel compound emerged as the most potent multi-cancer inhibitor, showing IC_{50} values of 4.47, 4.68, and 5.50 μg/mL against A549, MDA-MB-231, and PC3 cell lines, respectively.

Synthetic indole derivatives were also explored for their anticancer potential.[3] These compounds demonstrated activity against lung (A549), breast (MDA-MB-231), and prostate (PC3) cancer cell lines, as well as antityrosinase and α-glucosidase inhibitory activities. Notably, 3-substituted indoles, including 3-aminoalkylated indoles and bis-(3-indolyl) methanes, were synthesized through an efficient one-pot, catalyst-free multicomponent reaction.[4] Bis-(3-indolyl) methanes exhibited superior inhibitory effects on the MDA-MB-231 cell line compared to 3-aminoalkylated indoles. Molecular docking and dynamic simulations were performed to assess the structural properties of these compounds.

Novel N-alkylated-2-(substituted phenyl)-1*H*-benzimidazole derivatives were synthesized and tested for antiproliferative, antibacterial, and antifungal activities.[5] A standout compound showed remarkable antiproliferative effects against the MDA-MB-231 cell line and significant antibacterial activity, with MIC values of 8, 4, and 4 μg/mL against Streptococcus faecalis, Staphylococcus aureus, and methicillin-resistant Staphylococcus aureus, respectively.

Four novel triphenylpyrazoline 4-toluenesulfonylureas (PYSUs) were synthesized as fluorescent probes for detecting fluoride ions (F^-) in cancer cells.[6] These probes displayed antiproliferative activity against HepG2 and MDA-MB-231 cell lines. One compound, with an emission wavelength of 518 nm and an excitation wavelength of 469 nm, showed the best fluorescence response to F^- ions, with a detection limit of 0.269 mM. Fluorescent imaging of TBAF-incubated MDA-MB-231 and HepG2 cells confirmed the potential of PYSUs as effective sensors for F^- ions in live cancer cells (Figure 2).

Most recently, seventeen 2-amino-4,6-diarylpyrimidine derivatives were efficiently synthesized using a microwave-assisted two-step process.[7] Their structures were characterized by NMR and HRMS spectroscopy, and their anticancer activity was also evaluated. *In vitro*

assays against the human chronic myelocytic leukemia K562 cell line and ABL1 tyrosine kinase revealed a potent derivative with an IC50 value of 8.77±0.55 μM for K562 cells (Table 1) and an ABL1 inhibition value of 3.35±0.58 μM. Molecular docking studies on both wild-type and mutant ABL1 (PDB IDs: 2HYY and 5MO4) demonstrated that these compounds formed stable hydrogen bonds and π–π interactions with key active site residues. Additionally, molecular dynamics simulations confirmed the stability of the enzyme–ligand complexes.

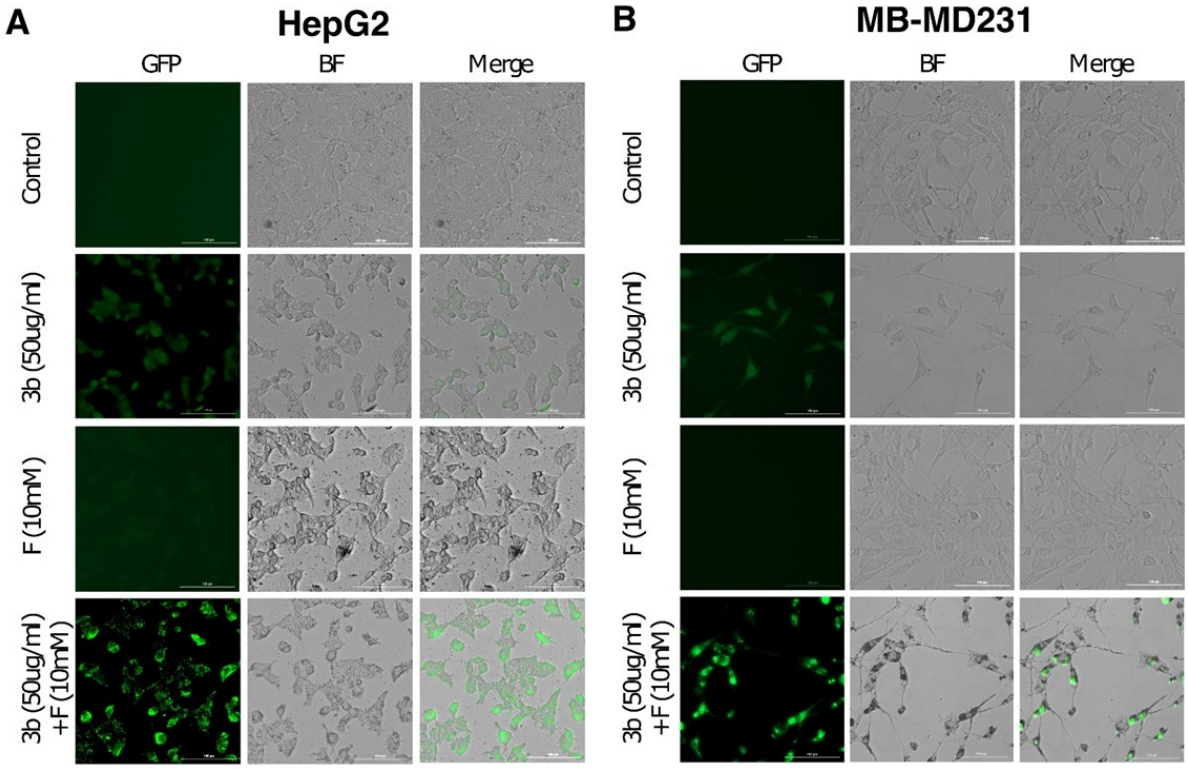
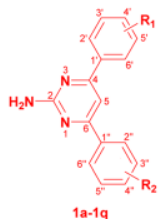


Figure 2. Fluorescence microscopy images of HepG2 (A) and MDA–MB231 (B) cells treatment with compound 4-toluenesulfonylurea, TBAF and mixture of 4-toluenesulfonylurea and TBAF (λ_{ex} = 469 nm). Cancer cells were incubated in relative compounds for 24 h at 37 ºC. Scale bars are 100 μm

Table 1. Anti-tumor activity of 2-amino-4,6-diarylpyrimidine derivatives against K562 cancer cells



Entry	Compound	R1	R2	IC50±SD (μM)
1	**1a**	2′-OH	H	57.41±1.76
2	**1b**	2′-OH	2″-OH	ND
3	**1c**	2′-OH	3″-OCH_3	82.02±1.89
4	**1d**	2′-OH	4″-OCH_3	ND

Entry	Compound	R1	R2	IC50±SD (μM)
5	**1e**	2′-OH	4″-Br	8.77±0.55
6	**1f**	2′-OH	4-Cl	ND
7	**1g**	3′-OCH_3	H	32.43±1.59
8	**1h**	3′-OCH_3	4″-OH	48.42±1.81
9	**1i**	3′-OCH_3	4″-OCH_3	ND
10	**1j**	3′-OCH_3	4-Br	57.68±1.73
11	**1k**	3′-OCH_3	4″-Cl	ND
12	**1l**	4′-OCH_3	H	61.94±1.62
13	**1m**	4′-OCH_3	4″-OH	43.25±1.42
14	**1n**	4′-OCH_3	4″-OCH_3	ND
15	**1o**	4′-OCH_3	4″-Br	ND
16	**1p**	4′-OCH_3	4″-Cl	ND
17	**1q**	4′-OH	H	0.116±0.002
18	Imatinib			

3.2. Insect attractants

Insect pheromones, a class of signaling compounds (semiochemicals), have the ability to attract insect species and are considered an effective alternative to conventional pesticides. These attractants exhibit minimal or no risk of resistance development, unlike traditional pesticides. Despite their demonstrated advantages, the application of pheromones in Vietnam remains limited due to high production costs.

To address this challenge, researchers at the Institute have developed novel synthesis methods for commonly used insect attractants in Vietnam, with the aim of advancing pheromone-based technologies for high-tech agricultural applications. Achievements include the synthesis of rootworm attractants such as 8-methyldec-2-yl propanoate (*Diabrotica longicornis* Say) and 10-methyltridecan-2-one (*Diabrotica undecimpunctata* howardi Barber) from low-cost commercial diol precursors,[8] as well as the cabbage moth pheromone (Z)-7-dodecen-1-yl acetate synthesized from (Z)-2-butene-1,4-diol through a four-step process with an overall yield of 22.1%.[9]

Additionally, the Institute has conducted research on the red palm weevil (*Rhynchophorus ferrugineus* Oliv.) and sweet potato weevil (*Cylas formicarius*), evaluating the field efficacy of synthesized attractants in Ben Tre province.[10,11] The results demonstrated strong attractant activity. Notably, 30 analogs of 4-methyl-5-nonanol and 4-methyl-5-nonanone, two key components of *R. ferrugineus* pheromones, were synthesized (Figure 3).[12] Among these, β-methyl alcohol derivatives were synthesized with varying *threo:erythro* ratios using the Felkin-Anh mechanism. The study identified five novel attractants for *R. ferrugineus*, with two compounds, 3-methyldecan-4-one and 4-methyldecan-5-ol, demonstrating superior efficacy compared to the native pheromone blend.

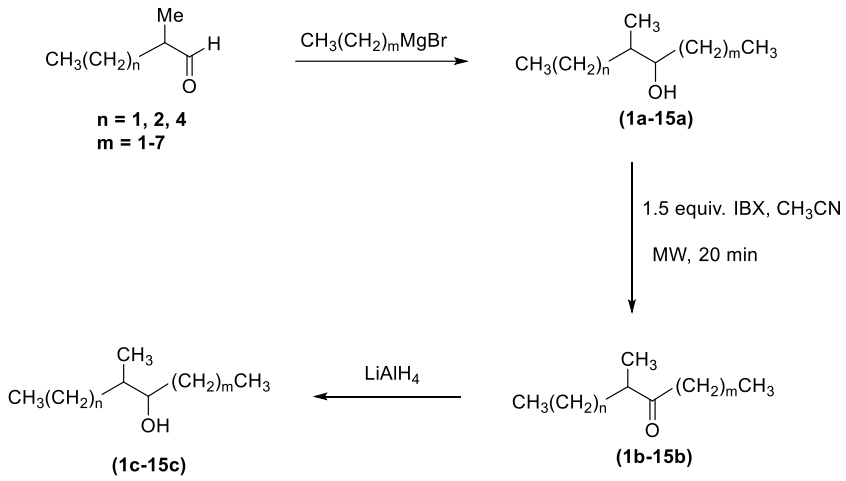


Figure 3. Synthesis of insect attractants containing β-alcohol and ketone derivatives

3.3. Bioactive natural compounds

Natural products are invaluable sources for drug discovery, often challenging to chemical synthesis pathway. Moreover, they serve as crucial raw materials for chemical modification, enabling the development of bioactive compounds with enhanced efficacy and reduced toxicity. Vietnam, a tropical country, possesses a rich diversity of medicinal plants widely used in traditional medicine. Consequently, the study of bioactive natural compounds is a prominent research focus for leading scientists. Over the past five years, the research group of ICT has successfully extracted and isolated more than 200 pure compounds from 11 plant species, including *Pandanus tectorius*, *Phlogacanthus turgidus*, and *Luvunga scandens*, among others (Figure 4). Notably, 30 newly identified compounds exhibit promising potential for applications such as α-glucosidase inhibition, hepatoprotection, cytotoxicity, and anti-inflammatory activities. This work has culminated in the publication of over 30 papers in SCIE/Scopus-indexed, and domestic journals.

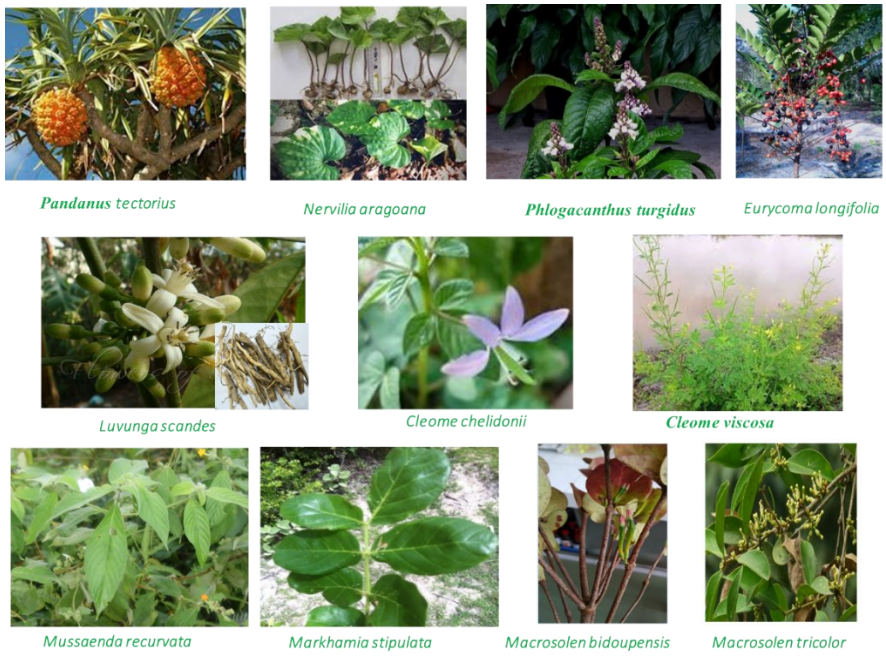


Figure 4. Plant species investigated in recent studies

Recent investigations into the chemical composition and biological activities of *Macrosolen bidoupensis* and *Macrosolen tricolor* have yielded significant findings. From *M.*

bidoupensis, a novel cycloartane-type triterpenoid, named macrobidoupoic acid A, was isolated using chromatographic methods. Cytotoxic assays against A549 and RD human cancer cell lines revealed moderate activity, with IC_{50} values ranging from 5.44 μM to 39.52 μM.[13,14] Further phytochemical analysis identified ten compounds, including lupane-, friedelane-, and glutinane-type triterpenoids, as well as cholestane-type steroids. Five of these compounds exhibited notable cytotoxicity against MDA-MB-231 and RD cancer cell lines (IC_{50} values: 29.07-74.25 μM).

From *Macrosolen tricolor*, one novel diarylpropanoid, macrotricolorin A, was isolated alongside three known diarylheptanoids: bisdemethoxycurcumin, demethoxycurcumin, and curcumin.[15] The result found a new compound with high anti-inflammatory activity by inhibiting nitric oxide (NO) production in LPS-induced RAW264.7 macrophages, with an IC_{50} value of 27.54±1.75 μM .

A chemical investigation of the chloroform extract of *Phlogacanthus turgidus* led to the discovery of a new compound, turgidol, along with five known triterpenoids: lupeol, lupenone, betulin, betulinic acid, and taraxerol. Among these, turgidol, betulin, and betulinic acid exhibited significant cytotoxic activity against K562 cancer cells and potent α-glucosidase inhibitory effects (Figure 5).[16]

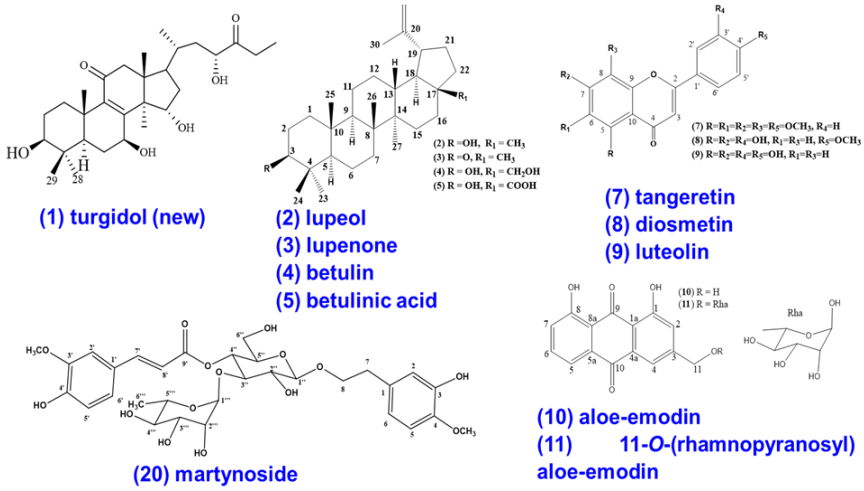


Figure 5. Chemical structures of compounds identified in *Phlogacanthus turgidus*

3.4. Biomedical polymer materials

Chemotherapy is one of the most commonly used methods in cancer treatment and supportive care regimens. However, while targeting malignant cells, chemotherapy also damages healthy cells, leading to significant side effects for patients. To address this issue, researchers have proposed using drug delivery systems to minimize the toxicity of chemotherapeutic agents. These systems act as carriers that protect drugs from being eliminated by defense mechanisms of the body. Furthermore, nano-sized carriers enable drugs to specifically target tumor sites, reducing their systemic distribution, thereby lowering side effects and decreasing the required drug dosage without compromising therapeutic efficacy.

To date, various nano-drug delivery systems have been commercialized, offering hope for prolonging the lives of cancer patients and providing economic benefits to pharmaceutical companies. However, the limited control over drug release in these systems still results in undesired side effects. To overcome this challenge, the Biomedical Materials Research Group at the ICT has developed novel nano-materials for controlled drug delivery. These materials are capable of carrying both hydrophilic and hydrophobic drugs, exhibit biocompatibility, and remain stable in physiological conditions. Due to their stable structures and unique physical,

electrical, magnetic, and optical properties, inorganic nanomaterials have been widely utilized in diagnostic and therapeutic applications. However, their disadvantages include poor dispersion in solution and weak interactions with drugs, resulting in low drug-loading efficiency. To address these limitations, the research group modified inorganic nanomaterials with polymers to enhance their properties.

Various silica-based nanocarriers, including rod-shaped, spherical, mesoporous, and hollow mesoporous structures, have been successfully synthesized with uniform particle sizes ranging from 10 to 500 nm and surface areas between 100 and over 1000 cm^2/g. However, a significant amount of drug was released prematurely before reaching the target cells due to weak drug–carrier interactions, causing unwanted side effects.[17-19] Recently, silica nanomaterials have been surface-functionalized with polymers such as polyethylene glycol (PEG) and heparin via disulfide linkages (Figure 6A). These polymer layers act as barriers to prevent premature drug release during transport. This approach improved the drug encapsulation efficiency and protected the drug until it reached the target cells, while also enhancing biocompatibility.[20,21]

Additionally, host-guest interactions have been employed to create self-assembling hybrid systems. Silica nanoparticles were modified with adamantamine (ADA) via disulfide bridges (PNS-SS-A), and cyclodextrin was grafted onto heparin-polyethylene glycol (CD-HPEG) or PEG (CD-PEG) polymers.[22] When mixed, these components self-assembled due to host-guest interactions, forming hybrid carriers. This self-assembly method increased drug-loading efficiency (~40%) while ensuring controlled release in glutathione-rich environments. Notably, this approach eliminates the need for final product purification, facilitating large-scale production (Figure 6B).

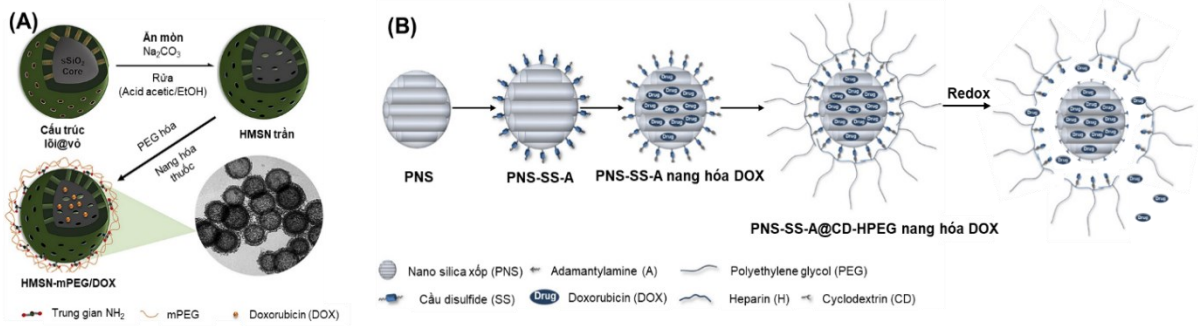


Figure 6. Schematic representation of (A) PEGylation of HMSN particles and (B) self-assembly via host-guest interactions for DOX encapsulation in PNS-SS-A@CD-HPEG

Magnetic nanoparticles at the nanoscale exhibit unique superparamagnetic properties, making them valuable for early tumor detection and cancer treatment via hyperthermia. However, unmodified magnetic nanoparticles suffer from instability, easy aggregation, and minimal drug interactions, resulting in low drug-loading efficiency. To overcome these limitations, the research group developed surface-modified superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) with cyclodextrin (CD) and PEG for drug delivery. Cyclodextrin-modified SPIONs (SPIO@CD) enhanced interactions with the anticancer drug paclitaxel (PTX) via host-guest chemistry. Meanwhile, PEG was functionalized with adamantamine (ADA) at one end and a targeting ligand RGD at the other (ADA-PEG-RGD). When mixed with SPIO@CD, PTX, and ADA-PEG-RGD, a self-assembled magnetic nanoparticle system (SAMNs) was formed. The particle size of these systems could be tuned between 91 and 274 nm by varying the ADA-PEG-RGD ratio, with drug-loading efficiencies ranging from 42.5% to 77.8%. The SAMNs exhibited superparamagnetic properties with a magnetization value of 45.0 emu/g and demonstrated efficient cellular targeting when functionalized with the RGD

ligand.[23] In addition, Fe_3O_4 nanoparticles were combined with chitosan-mPEG (CTS-mPEG) and gelatin to form Fe_3O_4@CTS-mPEG and Gel@Fe_3O_4 nanocarriers. These carriers successfully encapsulated PTX and exhibited sustained drug release over 96 hours, offering promising potential for cancer therapy.[24,25]

3.5. Bioactive metal nanomaterials

The nanocomposites, oligosaccharide/alginate, were synthesized through an ionotropic gelation mechanism involving Ca-alginate beads and oligosaccharides. The concentration and properties of the oligosaccharides play a crucial role in the synthesis of nanocomposites with desired particle size and performance. An excess of oligosaccharides results in the formation of smaller, water-soluble particles but yields a lower gelation efficiency. Conversely, a lower oligosaccharide content increases gelation efficiency but produces larger particles.[26] In addition to cyclodextrin and lactose derivatives, the study also explored other saccharides such as maltose, glucose, glucosamine, and dextran, all of which demonstrated promising results. Based on this approach, metal-based polysaccharide nanomaterials have been developed with potential applications in environmental remediation.

Metallic nanoparticles (e.g., gold, silver, and palladium) exhibit unique optoelectronic properties dependent on their size and shape, attributed to the presence of free electrons on their surfaces. Metallic nanoparticles including silver nanoparticles (AgNPs) and gold nanoparticles (AuNPs) on a oligosaccharide/alginate-based matrix was successfully synthesized.[27-29] These nanocomposites were fabricated through a chemical reduction method utilizing plant extracts within ion-containing Ag^+ gel systems. Notably, silver-based nanocomposites exhibited pH-responsive silver ion release, indicating potential applications as smart antibiotics.[30] The study revealed that the nanocomposite displayed low antibacterial activity under acidic or neutral conditions but exhibited enhanced biological activity in alkaline environments. The reaction mechanism is illustrated in Figure 7. Furthermore, the impact of α-, β-, and γ-cyclodextrins on AgNP synthesis was also examined and evaluated.

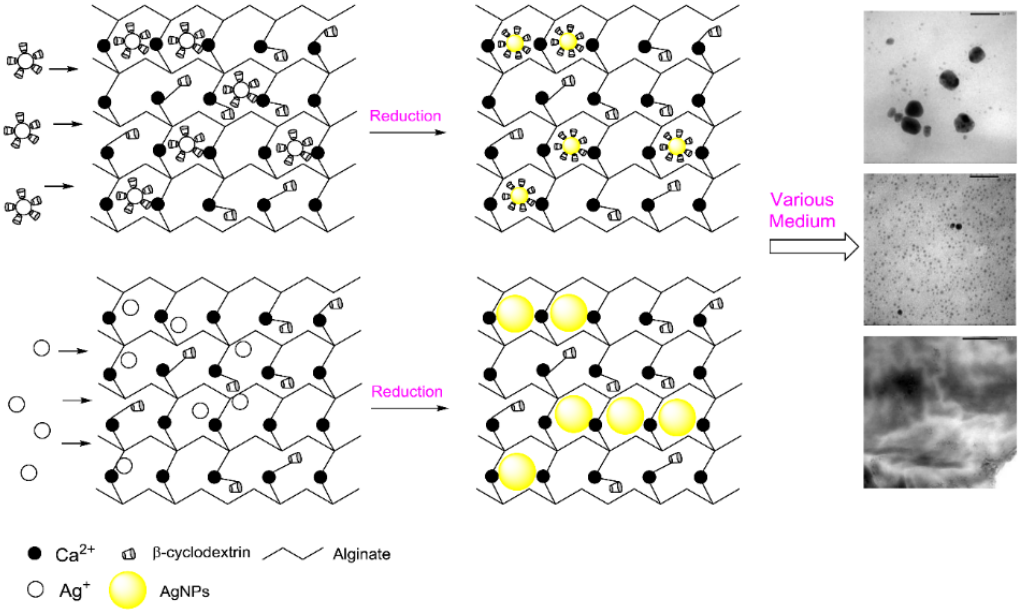


Figure 7. Controlled synthesis of AgNPs via polysaccharide stabilization and the release of silver ions from the nanocomposite system under varying pH conditions (pH 4-10)

4. CONCLUSION

Since its establishment in 1993, the Institute of Chemical Technology has steadily grown alongside Vietnam's scientific advancements, achieving remarkable progress over the past 30 years. Between 2020 and 2024, the Institute published over 269 articles in SCIE/Scopus-indexed international journals, with a particularly high publication rate of 2.04 articles per researcher in 2024. The research primarily focuses on scientific and technological fields, with two key areas of emphasis: bioactive organic compounds and bioactive materials, targeting applications in biomedicine and agriculture. Moving forward, the Institute aims to leverage its existing strengths to foster the development of the research groups while expanding into emerging areas to meet evolving needs in Vietnam and on the World.

Data Availability Statement. The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

REFERENCES

1. Thach T. D., Nguyen T. M. T.; Nguyen T. A. T., Dang C. H., Luong T.B., Dang V. S., Banh K. S., Luc V. S., Nguyen T. D. Synthesis and antimicrobial, antiproliferative and anti-inflammatory activities of novel 1,3,5-substituted pyrazoline sulphonamides, *Arabian Journal of Chemistry*, **2021**, *14*, 103408.
2. Huynh T. K. C., Nguyen T. H. A., Nguyen T. C. T., Hoang T. K. D. Synthesis and insight into the structure-activity relationships of 2-phenylbenzimidazoles as prospective anticancer agents, *Rsc Advances*, **2020**, *10*, 20543-20551.
3. Nguyen H. P., Dang H. K., Phung V. T., Thai K. M. Catalyst-free and multicomponent synthesis of 3-aminoalkylated indoles via a Mannich-type reaction: multitargeted anticancer, tyrosinase and α-glucosidase inhibitory activities, *New Journal of Chemistry*, **2021**, *45*, 18183-18191.
4. Nguyen T. A., Nguyen H. P., Ho D. N. P., Huynh L. K., An T. N. M. Exploration of novel 3-substituted indole derivatives through multicomponent reaction: *In vitro* cytotoxicity, in silico docking, and molecular dynamics, *Results in Chemistry*, **2024**, *7*, 101501.
5. Phan N. K. N., Huynh T. K. C., Nguyen H. P., Le Q. T., Nguyen T. C. T., Ngo K. K. H., Nguyen T. H. A., Ton K. A., Thai K. M., Hoang T. K. D. Exploration of Remarkably potential multitarget-directed N-alkylated-2-(substituted phenyl)-1*H*-benzimidazole derivatives as antiproliferative, antifungal, and antibacterial agents, *ACS omega*, **2023**, *8*, 28733-28748.
6. Thach T. D., Nguyen T. D. N., Nguyen T. M. T., Dang V. S., Mai D. T., Le V. D., Dang C. H., Le Q. N. N., Nguyen P. T. V., Nguyen M. N. Novel sulfonylurea fluorescence probes for antiproliferative activity, detection and imaging of fluoride ions in living cells. *Microchemical Journal* **2024**, *207*, 111760.
7. Mai T. T., Nguyen H. D., Duong T. T., Tran L. P., Duong T. T., Koroleva E. V., Ignatovich, Z. V., Ermolinskaya A. L., Nguyen H. P., Ton A. K. 2-Amino-4,6-diarylpyrimidines as potential chronic myeloid leukemia cell inhibitors targeting anti-ABL1 kinase: microwave-assisted synthesis, biological evaluation, molecular docking, and dynamics studies, *RSC Advances*, **2025**, *15*, 4458-4471.
8. Nguyen T. D., Nguyen C. H., Im C., Dang C. H. Synthesis of corn rootworm pheromones from commercial diols, *Chemical Papers*, **2015**, *69*, 380-384.

9. Nguyen T. D., Nguyen C. H., Im C., Dang C. H. A Facile Synthesis of the Sex Pheromone of the Cabbage Looper Trichoplusia ni, *Chemistry of Natural Compounds*, **2016**, *52*, 877-879.

10. Le V. D., Le T. C. H., Chau V. T., Le T. N. D., Dang C. H., Vo T. T. N., Nguyen T. D., Nguyen T. D. Palladium nanoparticles in situ synthesized on *Cyclea barbata* pectin as a heterogeneous catalyst for Heck coupling in water, the reduction of nitrophenols and alkynes, *New Journal of Chemistry*, **2021**, *45*, 4746-4755.

11. Hao N. C., Danh N. T., Luong N. L. N., Duong N. T., Thao N. T. M., Hien D. C. Synthesis and field experiments of the female sex pheromone of sweet potato weevil, *Cylas formicarius*, *Vietnam Journal of Science and Technology*, **2023**, *61*, 344-354.

12. Le V. D., Dang C. H., Nguyen C. H., Nguyen H. U., Nguyen T. D. Synthesis of β-methyl alcohols: influence of alkyl chain length on diastereoselectivity and new attractants of *Rhynchophorus ferrugineus*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2021**, *69*, 5882-5886.

13. Le K. H., Huynh B. L. C., Pham N. K. T., Do T. H. T., Nguyen L. T. T., Dang V. S., Ngo Q. L., Tran T. N. M., Bui T. D., Phan N. M. Cycloartane-type triterpenoids from the whole plants of *Macrosolen bidoupensis*, *Journal of Asian Natural Products Research*, **2022**, *24*, 596-602.

14. Chi D. Cytotoxic activity and phytochemical constituents of *Macrosolen bidoupensis* Tangane & VS Dang, **2021**.

15. Le K. H., Bui T. K. N., Pham N. K. T., Dang V. S., Ngo T. N., Phan N. M., Bui T. D., Tran T. D., Nguyen Q. H., Ngo Q. L. Macrotricolorin A, a new diarylpropanoid from the Vietnamese plant *Macrosolen tricolor* (Lecomte) Danser, *Natural Product Research*, **2021**, *36*, 165-170.

16. Tri M. D., Phat N. T., Trung N. T., Phan C. T. D., Minh P. N., Chi M. T., Nguyen T. P., Dang C. H., Hong Truong L., Pham N. K. T. A new 26-norlanostane from *Phlogacanthus turgidus* growing in Vietnam, *Journal of Asian Natural Products Research*, **2022**, *24*, 196-202.

17. Nguyen N. H., Tran D. L., Truong Thi N. H., Nguyen C. K., Tran C. T., Nguyen D. H. Simply and effectively control the shell thickness of hollow mesoporous silica nanoparticles by polyethylene glycol for drug delivery applications, *Journal of Applied Polymer Science*, **2022**, *139*, e53126.

18. Nguyen N. H., Truong Thi N. H., Nguyen D. T. D., Ching Y. C., Huynh N. T., Nguyen D. H. Non-ionic surfactants As co-templates to control the mesopore diameter of hollow mesoporous silica nanoparticles for drug delivery applications, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **2022**, *655*, 130218.

19. Nguyen T. N. T., Le N. T. T., Nguyen N. H., Ly B. T. K., Nguyen T. D., Nguyen D. H. Aminated hollow mesoporous silica nanoparticles as an enhanced loading and sustained releasing carrier for doxorubicin delivery, *Microporous and Mesoporous Materials*, **2020**, *309*, 110543.

20. Vo U. V., Nguyen T. H., Gallais M., Vu-Quang H., Nguyen C. K., Lam T. D., Nguyen D. C., Bach L. G., Nguyen D. H. Porous nanosilica hybrids biocompatible polymer for enhancing anticancer drugs loading efficiency and targeted delivery, *Materials Today: Proceedings*, **2019**, *18*, 4157-4163.

21. Truong-Thi N. H., Nguyen N. H., Nguyen D. T. D., Tang T. N., Nguyen T. H., Nguyen D. H. pH-responsive delivery of Platinum-based drugs through the surface modification of heparin on mesoporous silica nanoparticles, *European Polymer Journal*, **2023**, *185*, 111818.

22. Nguyen A. K., Nguyen T. H., Bao B. Q., Bach L. G., Nguyen D. H. Efficient self-assembly of mPEG end-capped porous silica as a redox-sensitive nanocarrier for controlled doxorubicin delivery, *International Journal of Biomaterials*, **2018**, *2018*, 1575438.

23. Nguyen-Dinh T. D., Nguyen Phuoc N. T., Le N. T. T., Nguyen N. H., Nguyen D. H. A dual-stimuli-responsive delivery system for poorly water-soluble drug based on iron oxide nanoparticles, *Journal of Materials Research*, **2023**, *38*, 4057-4067.

24. Hoang Thi T. T., Nguyen Tran D. H., Bach L. G., Vu Quang H., Nguyen D. C., Park K. D., Nguyen D. H. Functional magnetic core-shell system-based iron oxide nanoparticle coated with biocompatible copolymer for anticancer drug delivery, *Pharmaceutics*, **2019**, *11*, 120.

25. Le Thi T. N., Nguyen T. H., Hoang D. Q., Tran T. V., Nguyen N. T., Nguyen D. H. Development of new magnetic nanoparticles: Oligochitosan obtained by γ-rays and-coated Fe_3O_4 nanoparticles, *Applied Surface Science*, **2017**, *422*, 863-868.

26. Nguyen T. D., Hong Ngan Tran T., Nguyen C. H., Im C., Dang C. H. Synthesis and characterization of β-cyclodextrin/alginate nanoparticle as a novel drug delivery system, *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, **2015**, *29*, 429-435.

27. Ho T. T. T., Dang C. H., Huynh T. K. C., Hoang T. K. D., Nguyen T. D. *In situ* synthesis of gold nanoparticles on novel nanocomposite lactose/alginate: Recyclable catalysis and colorimetric detection of Fe(III), *Carbohydrate Polymers*, **2021**, *251*, 116998.

28. Tu N. T. T., Vo T. L. A., Ho T. T. T., Dang K. P. T., Le V. D., Minh P. N., Dang C. H., Tran V. T., Dang V. S., Chi T. T. K. Silver nanoparticles loaded on lactose/alginate: *in situ* synthesis, catalytic degradation, and pH-dependent antibacterial activity, *Beilstein Journal of Nanotechnology*, **2023**, *14*, 781-792.

29. Thien T. V., Vo T. T., Le V. D., Dang C. H., Dang V. S., Le N. T. H., Chi T. T. K., Tu N. T. T., Vu Quang H., Nguyen T. D. Impact of α-, β-, γ-cyclodextrins on recyclable catalytic reduction of silver nanoparticles loaded on cyclodextrin/alginate, *Journal of Organometallic Chemistry*, **2024**, *1013*, 123161.

30. Nguyen T. D., Vo T. T., Huynh T. T. T., Nguyen C. H., Doan V. D., Nguyen D. T., Nguyen T. D., Dang C. H. Effect of capping methods on the morphology of silver nanoparticles: study on the media-induced release of silver from the nanocomposite β-cyclodextrin/alginate, *New Journal of Chemistry*, **2019**, *43*, 16841-16852.

Corresponding author: **Hoang Thi Kim Dung**
Institute of Chemical Technology
Vietnam Academy of Science and Technology
1A, TL29, Thanh Loc ward, District 12, Ho Chi Minh City, Vietnam
Email: hoangthikimdung@gmail.com.

HOẠT ĐỘNG NGHIÊN CỨU KHOA HỌC CỦA VIỆN NGHIÊN CỨU KHOA HỌC TÂY NGUYÊN GIAI ĐOẠN 2020-2024

Nguyễn Hữu Toàn Phan*, Nông Văn Duy, Nguyễn Thị Thu Hiền, Trần Thái Vinh

Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
116, Xô Viết Nghệ Tĩnh, Phường 7, Đà Lạt, Lâm Đồng, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên trực thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam hoạt động theo chức năng: Nghiên cứu cơ bản, điều tra cơ bản, ứng dụng và phát triển công nghệ, tư vấn, dịch vụ khoa học công nghệ và đào tạo nguồn nhân lực có trình độ cao trong lĩnh vực sinh học, hóa học, địa lý, tài nguyên thiên nhiên, môi trường và các lĩnh vực khác có liên quan theo quy định của pháp luật. Các nhiệm vụ cụ thể của Viện bao gồm: Nghiên cứu cơ bản, điều tra cơ bản nguồn tài nguyên sinh vật vùng Tây Nguyên tạo cơ sở khoa học cho bảo tồn đa dạng sinh học, sử dụng và phát triển bền vững. Nghiên cứu những vấn đề khoa học và công nghệ thuộc các lĩnh vực sinh học như: Công nghệ gen, công nghệ tế bào động vật, công nghệ tế bào thực vật, công nghệ vi sinh, công nghệ nấm và các lĩnh vực khác có liên quan. Nghiên cứu cơ bản các chất có hoạt tính sinh học từ thực vật, động vật và vi sinh, bán tổng hợp các hợp chất có hoạt tính sinh học cao, cấu trúc nano các hợp chất y sinh, nghiên cứu phát triển công nghệ và thiết bị; Điều tra tổng hợp điều kiện tự nhiên, tài nguyên thiên nhiên, môi trường, nghiên cứu sử dụng hợp lý tài nguyên thiên nhiên phục vụ phát triển kinh tế - xã hội các vùng lãnh thổ; Nghiên cứu và ứng dụng các giải pháp khoa học và công nghệ trong kiểm soát và xử lý ô nhiễm môi trường, phòng tránh và giảm nhẹ thiên tai các lĩnh vực khác có liên quan; Nghiên cứu và phát triển công nghệ Viễn thám, GIS, GPS, Internet và các công nghệ khác có liên quan; Nghiên cứu, phát triển và ứng dụng các phương pháp địa chất; nghiên cứu tìm kiếm, thăm dò khai thác khoáng sản và ứng dụng công nghệ khoáng; Tư vấn chiến lược, quy hoạch, kế hoạch, chính sách, chương trình và dự án phát triển khoa học và công nghệ; Tổ chức thực hiện dịch vụ khoa học, công nghệ, phát triển sản phẩm, nghiên cứu và cung ứng, ứng dụng và chuyển giao các kết quả nghiên cứu trong lĩnh vực theo chức năng và quy định của pháp luật; Xây dựng bảo tàng Sinh học Tây Nguyên, tổ chức sưu tầm, chế tác, xây dựng và quản lý bộ sưu tập mẫu động thực vật đạt chuẩn quốc gia; tổ chức trưng bày, phổ biến kiến thức, tuyên truyền giáo dục về thiên nhiên và bảo vệ môi trường; Đào tạo nguồn nhân lực khoa học và công nghệ có trình độ cao trong lĩnh vực sinh học, hóa học, địa lý, tài nguyên, môi trường và các lĩnh vực có liên quan khác; Hợp tác quốc tế trong lĩnh vực sinh học, hóa học, địa lý, tài nguyên, môi trường và các lĩnh vực khác có liên quan; Quản lý về tổ chức, bộ máy; quản lý và sử dụng viên chức, người lao động của đơn vị theo quy định của pháp luật và của Viện Hàn lâm; Quản lý về tài chính, tài sản của đơn vị theo quy định của pháp luật và của Viện Hàn lâm; Thực hiện các nhiệm vụ khác do Chủ tịch Viện Hàn lâm giao.

Các hướng hoạt động nghiên cứu chính của Viện bao gồm đa dạng sinh học và các chất có hoạt tính sinh học, công nghệ sinh học, địa lý, tài nguyên thiên, môi trường và xây dựng, phát triển Bảo tàng Sinh học.

Những kết quả chính của Viện đã đạt được trong giai đoạn 2020-2024 về lĩnh vực đa dạng sinh học và các chất có hoạt tính sinh học được báo cáo như sau:

1. CÁC ĐỀ TÀI, DỰ ÁN ĐƯỢC TRIỂN KHAI

Trong 05 năm 2020-2024, theo hướng đa dạng sinh học và các chất có hoạt tính sinh học, Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên triển khai thực hiện 02 đề tài thuộc chương trình Tây Nguyên 2016-2020, 02 đề tài Nafosted, 02 đề tài cấp Viện Hàn lâm, 01 dự án thành phần thuộc dự án "Xây dựng Bộ sưu tập mẫu vật Quốc gia về Thiên nhiên Việt Nam" và một số đề tài khác:

a. Đề tài TN18/T08: "Nghiên cứu phát triển, sử dụng và bảo tồn bền vững 05 loài lan (*Dendrobium nobile, Dendrobium trankimianum, Paphiopedilum villosum, Phaius baolocensis* và *Phaius tankervilleae*) đặc hữu, quý hiếm và có giá trị kinh tế cao, phục vụ phát triển kinh tế - xã hội tại Lâm Đồng - Tây Nguyên".

b. Đề tài TN18/C09: "Nghiên cứu bảo tồn và phát triển một số loài dược liệu chủ lực của Tây Nguyên, tạo ra một số sản phẩm có giá trị cao từ một vài loài dược liệu chủ lực, bản địa quý hiếm của Tây Nguyên".

c. Đề tài cấp Viện Hàn lâm (VAST04): "Nghiên cứu thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của cây thông mộc lá nhám (*Aralia dasyphylla* Miq.) họ nhân sâm (Araliaceae) và tạo chế phẩm có khả năng kháng ung thư hoặc kháng viêm hoặc kháng khuẩn".

d. Đề tài cấp Viện Hàn lâm thuộc 7 hướng ưu tiên: "Xây dựng cơ sở dữ liệu khoa học về nguồn tài nguyên tre trúc ở Tây Nguyên".

e. Đề tài Nafosted: "Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học một số loài thuộc chi Vông đỏ (*Alchornea*) ở Việt Nam".

f. Đề tài Nafosted: "Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của một số loài thuộc chi Thảo bạc (*Argyreia*) ở Việt Nam".

g. Các nhiệm vụ KHCN cấp cơ sở chọn lọc: "Phân tích thành phần hóa học chính của hai loài *Magnolia lamdongensis* và *Magnolia tiepii* bằng kỹ thuật LC-MS".

2. ĐA DẠNG SINH HỌC

2.1. Những nghiên cứu về phân họ Tre (Bambusoideae) ở Tây Nguyên

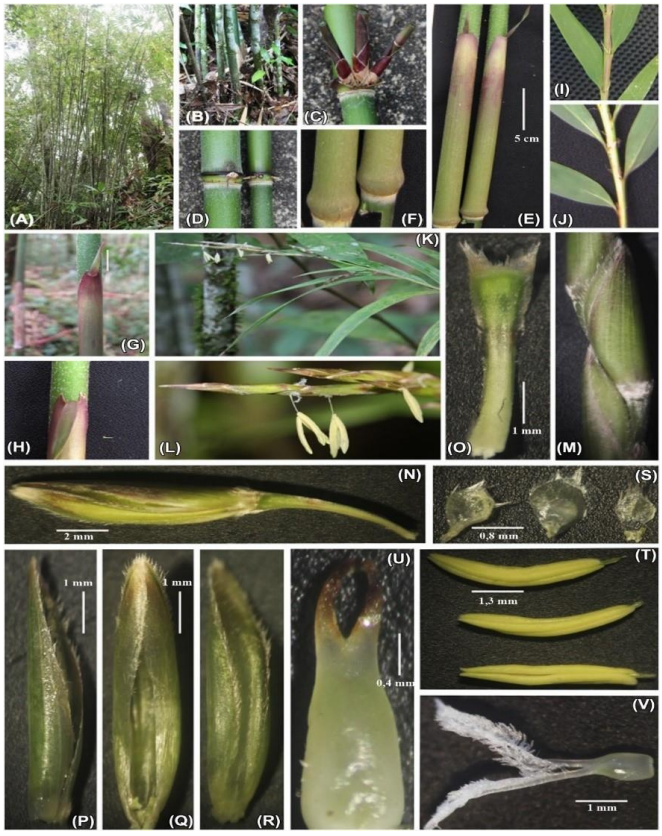
Tre có giá trị rất lớn, không những cung cấp nguồn nguyên vật liệu phục vụ cho đời sống con người mà còn có nhiều giá trị văn hóa khác nhau, và cũng từ đây đã hình thành nên một nét văn hóa đặc trưng của người dân Việt Nam. Bởi lẽ, từ thuở khai hoang, tre đã trở thành người bạn đồng hành của người Việt. Tre phân bố rộng, từ làng quê của mọi miền đất nước cho đến rừng sâu, núi cao. Tre dễ trồng, sinh trưởng nhanh, sớm khai thác, dễ chế biến và có nhiều đặc tính phù hợp với yêu cầu sử dụng của con người nên nó được sử dụng cho nhiều mục đích khác nhau

Nhóm nghiên cứu từ Viện đã kết hợp với các nhà khoa học đến từ Trường Đại học Đà Lạt, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam, Viện Khoa học Lâm nghiệp Nam Trung Bộ và Tây Nguyên tiến hành khảo sát thành phần Tre ở Tây Nguyên, đã phát hiện và công bố 03 loài mới cho khoa học:

- *Chimonocalamus bidoupensis* H. N. Nguyen & V. T. Tran;

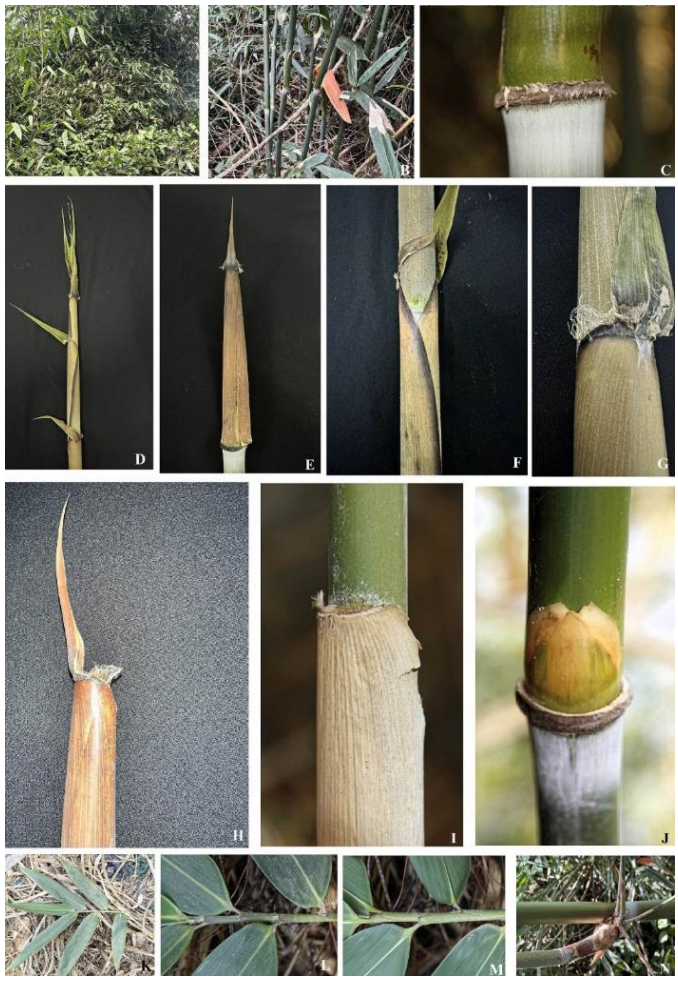
- *Yersinochloa nghiana* V. T. Tran & T. V. Tran;

- *Yersinochloa nianheana* V. T. Tran, N. V. Duy & T. V. Tran.



Chimonocalamus bidoupensis H. N. Nguyen & V. T. Tran

Yersinochloa nghiana V. T. Tran & T. V. Tran



Yersinochloa nianheana V. T. Tran, N. V. Duy & T. V. Tran

2.2. Những nghiên cứu về họ Lan (*Orchidaceae* Juss.)

Họ Lan ở Việt Nam là một họ có số lượng loài lớn và thành phần đa dạng nhất, với khoảng 1.200 loài, chiếm 10% tổng số loài trong hệ thực vật bậc cao có mạch tại Việt Nam. Số lượng các loài Lan mới phát hiện gần đây càng tăng lên. Những năm qua các nhà khoa học trong và ngoài nước đã phát hiện nhiều chi Lan mới, loài mới cho hệ thực vật Việt Nam như các chi *Bidupia, Corybas, Cylindrolobus, Hymenorchis, Octarrhena,...*

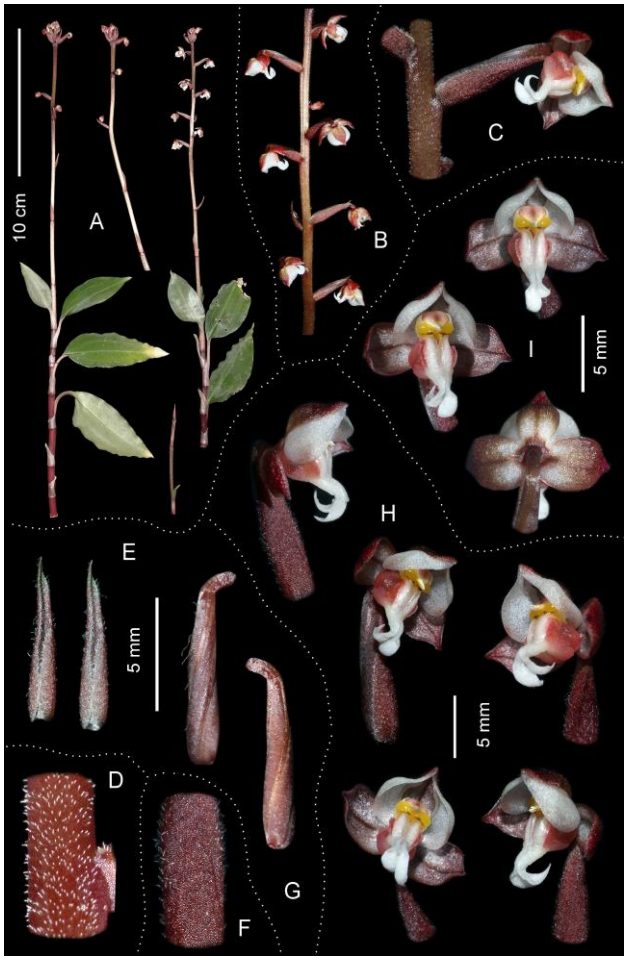
Thời gian qua nhóm cán bộ nghiên cứu của Viện đã kết hợp với các nhóm nghiên cứu trong nước và các chuyên gia ở Nga để tiến hành nghiên cứu họ Lan ở Tây Nguyên cũng như các vùng khác trong cả nước, đã phát hiện và công bố 01 loài bổ sung và 02 loài mới cho khoa học.

- *Nervilia kasiensis* S. W. Gale & Phaxays. (loài bổ sung);

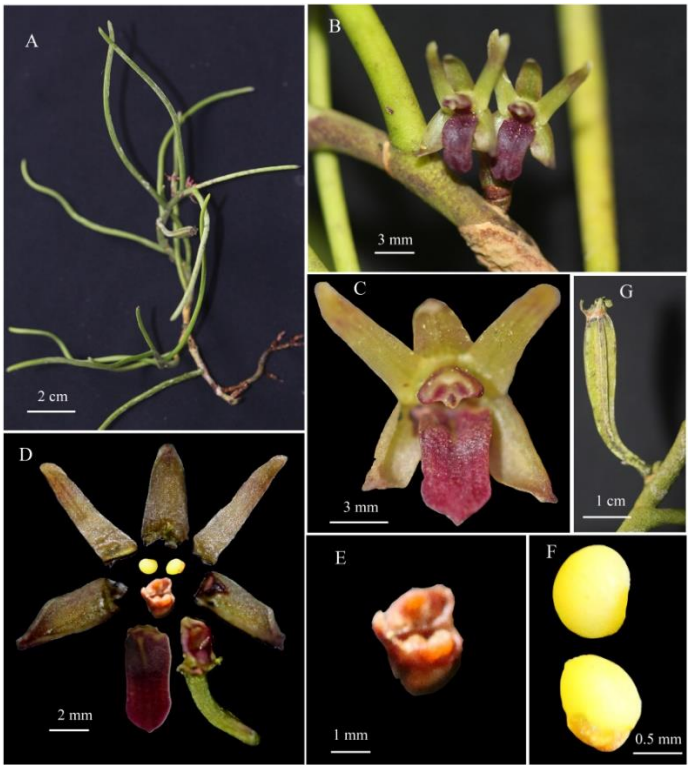
- *Bidoupia micrantha* Aver., V. C. Nguyen & Duy;

- *Luisia hoanii* N. V. Duy, T. V. Tran & V. H. Quach.

Nervilia kasiensis S. W. Gale & Phaxays. (loài bổ sung)



Bidoupia micrantha Aver., V. C. Nguyen & Duy



Luisia hoanii N. V. Duy, T. V. Tran & V. H. Quach

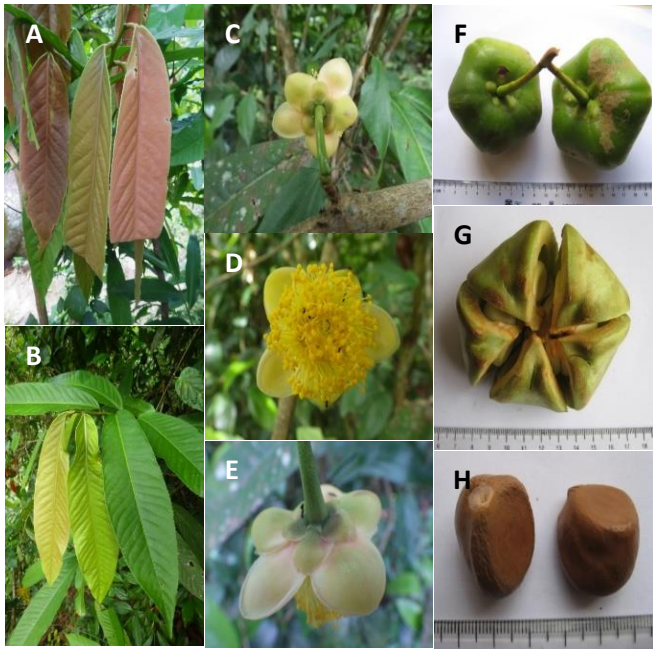
2.3. Những nghiên cứu về chi Trà (*Camellia* L., Theaceae)

Chi Trà (*Camellia*) là một nhóm thực vật thuộc họ Chè (Theaceae), bao gồm nhiều loài có giá trị kinh tế, văn hóa và đa dạng sinh học. Các loài trong chi Trà chủ yếu phân bố ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Việt Nam là một trong những quốc gia có sự đa dạng phong phú về các loài trong chi này. Việt Nam là nơi sinh sống của hơn 100 loài trong chi *Camellia*, trong đó có nhiều loài đặc hữu. Ở Việt Nam, chúng tập trung tại các khu vực miền núi phía Bắc Việt Nam và khu vực Tây Nguyên. Các loài trà thường là cây bụi hoặc cây gỗ nhỏ, có lá thường xanh, hoa lớn, màu sắc đa dạng từ trắng, hồng đến đỏ có nhiều giá trị thực tế. *Camellia sinensis* được trồng phổ biến để sản xuất chè (trà uống), là một trong những ngành công nghiệp quan trọng ở Việt Nam, đặc biệt tại các vùng như Thái Nguyên, Lâm Đồng. Một số loài *Camellia* có hoa đẹp (*C. japonica, C. amplexicaulis*,...) được trồng làm cây cảnh. Nhiều loài *Camellia* được sử dụng trong y học cổ truyền với các đặc tính như chống oxy hóa, hỗ trợ tiêu hóa, giảm cholesterol, và ngăn ngừa ung thư. Trong văn hóa truyền thống, uống trà đã trở thành một nét văn hóa sâu sắc, gắn liền với phong tục, lễ nghi, và đời sống tinh thần của người Việt. Cây trà thường xuất hiện trong thơ ca, hội họa và là biểu tượng của sự thanh tao, tinh khiết. Về mặt sinh thái, chi Trà có vai trò quan trọng trong bảo vệ đất, ngăn xói mòn, và duy trì cân bằng sinh thái, đặc biệt ở các vùng đồi núi. Việt Nam có nhiều loài *Camellia* đặc hữu với giá trị bảo tồn cao, góp phần làm phong phú hệ thực vật quốc gia bảo tồn đa dạng sinh học. Một số loài trà ở Việt Nam là đối tượng nghiên cứu khoa học để phát triển giống cây trồng mới, cải thiện năng suất và chất lượng chè. Nhiều loài *Camellia* đặc hữu như *C. piquetiana* hoặc *C. vietnamensis* đang được bảo tồn vì nguy cơ tuyệt chủng do khai thác quá mức và mất môi trường sống. Với những giá trị to lớn trong kinh tế, văn hóa, cũng như đa dạng sinh học. Chi Trà đã được các nhà nghiên cứu của Phòng Tài nguyên Thực vật quan tâm nghiên cứu. Các nghiên cứu về điều tra thành phần loài, phân bố, sinh thái, đa dạng sinh học và nghiên cứu nhân giống bảo tồn đã được thực hiện. Các nghiên cứu tiêu biểu điều tra đã phát hiện 4 loài mới và 1 loài phát hiện lại:

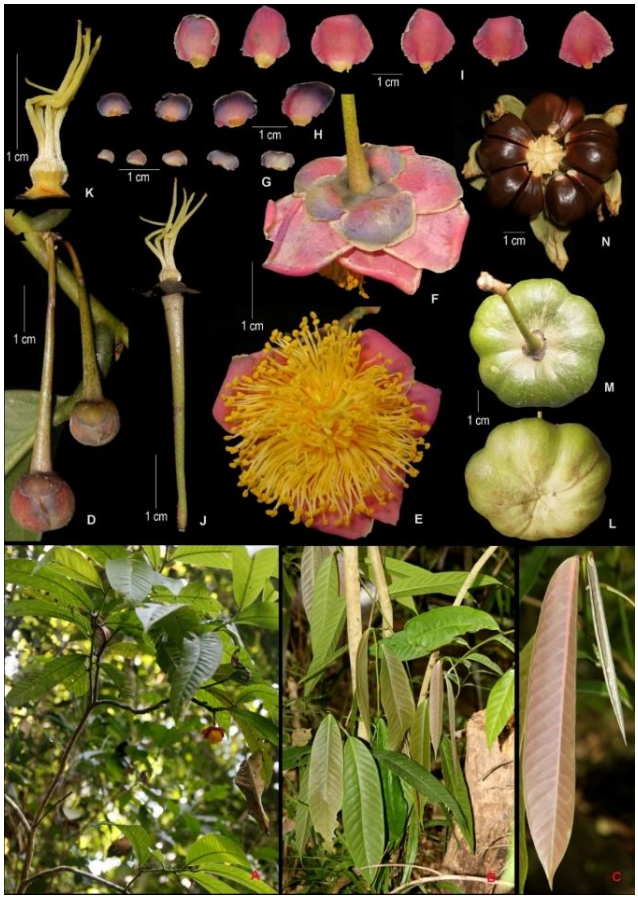
- *Camellia proensis* V. D. Luong, Doudkin & V. H. Quach;

- *Camellia phuongchiana* Curry, V. H. Quach, T. T. Hoang & Q. C. Truong;

- *Camellia hoabinhensis* V. D. Luong, Tran & V. T. Pham;
- *Camellia quynhii* Luong, Quach & Hoang;
- *Camellia langbianensis* (Gagnep.) P. H. Ho.

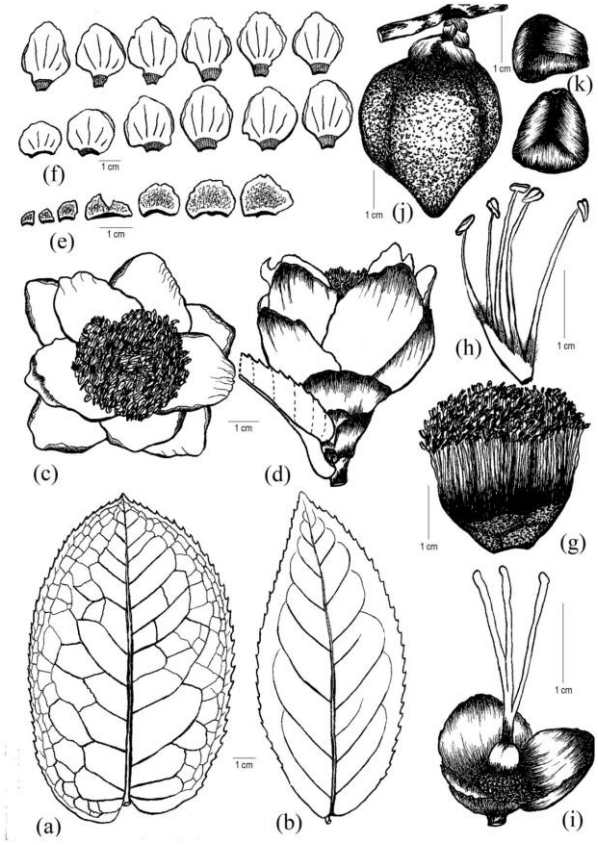


Camellia proensis V. D. Luong, Doudkin & V. H. Quach



Camellia phuongchiana Curry, V. H. Quach, T. T. Hoang & Q. C. Truong

Camellia hoabinhensis V. D. Luong, Tran & V. T. Pham



Camellia quynhii Luong, Quach & Hoang

2.4. Những nghiên cứu về tài nguyên cây thuốc, thực vật

Việt Nam nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa nóng và ẩm nên có nguồn tài nguyên thực vật phong phú và đa dạng. Theo thống kê sơ bộ, ở Việt Nam hiện đã biết khoảng 10.350 loài thực vật bậc cao có mạch, khoảng 800 loài Rêu, 600 loài Nấm và hơn 2.000 loài Tảo, trong đó có nhiều loài làm thuốc. Ngày nay, việc tìm kiếm các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học cao để làm thuốc là một xu thế được rất nhiều các nhà khoa học quan tâm. Chính vì lý do đó mà cây thuốc là một trong những loại tài nguyên đã và đang được quan tâm, khai thác trong những năm gần đây nhằm thay thế cho các loại thuốc tây y. Đây cũng là đối tượng rất được quan tâm nghiên cứu tại đơn vị trong những năm qua.

Bộ tiêu bản thực vật của trên 1.200 loài thực vật vùng Tây Nguyên được bổ sung hàng năm là bộ tiêu bản đầy đủ nhất hiện nay ở Lâm Đồng phục vụ cho công tác nghiên cứu.

2.5. Nghiên cứu về động vật

Trong khuôn khổ của Dự án thành phần thuộc Dự án sưu tầm bộ mẫu vật Quốc gia về thiên nhiên Việt Nam: Xây dựng bộ mẫu động vật (trên đất liền) Trung Trung bộ - Tây Nguyên, Việt Nam, nhóm nghiên cứu trong giai đoạn 2016-2020 đã thu được 3.705 mẫu trưng bày và tiêu bản nghiên cứu của 258 loài động vật thuộc 06 nhóm gồm thú, chim, lưỡng cư, bò sát, cá và côn trùng tại Tây Nguyên. Toàn bộ các mẫu vật này sẽ phục vụ hiệu quả cho công tác nghiên cứu cũng như nhiều mẫu vật có giá trị trưng bày cao sẽ trực tiếp phục vụ cho công tác trưng bày của Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam.

3. NGHIÊN CỨU HÓA HỌC VÀ CHẤT CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC

Trong giai đoạn 2020-2024, Viện tập trung nghiên cứu về thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính sinh học từ một số loài thực vật, dược liệu sau:

+ Xoan nhừ (*Choerospondias axillaris* (Roxb.) B. L. Burtt & A. W. Hill);

+ Thông mộc lá nhám (*Aralia dasyphylla* Miq.);

+ Cuồng hiệp (*Aralia hiepiana* J. Wen & Lowry);

+ Sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn.);

+ Atisô (*Cynara scolymus* L.);

+ Đảng sâm (*Codonopsis japonica* Miq.);

+ Đương quy (*Angelica* sp.);

+ Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* (L.) Harms);

+ Sa nhân tím (*Amomum longiligulare* T. L. Wu);

+ 4 loài thuộc chi vông đỏ *Alchornea*: *A. tiliaefolia, A. annamica, A. rugosa* và *A. trewioides*;

+ 2 loài thuộc chi Mộc lan: *Magnolia lamdongensis* và *Magnolia tiepii*.

Quá trình nghiên cứu đã phân lập trên 100 hợp chất, trong đó có một số hợp chất mới như: Axillariol A, Axillariol B và Axillariol C (*C. axillaris*); sesquilignan glycoside của pinoresinol (*C. scolymus*); codobenzyloside, codojavanosides A, codojavanosides B, codojavanosides C (*Codonopsis japonica*); trewiosides A, trewiosides B (*A. trewioides*); alnamicosides A, alnamicosides B (*A. annamica*),…

Các kết quả nghiên cứu về hóa học cho thấy sự đa dạng về thành phần hợp chất, nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học cao, có thể định hướng cho việc ứng dụng về sau.

Với sự đa dạng của hệ động thực vật Tây Nguyên trong đó nhiều đối tượng sinh vật chưa được nghiên cứu, phát hiện, với sự nỗ lực của cán bộ nghiên cứu thuộc Viện cùng sự hợp tác chặt chẽ với các cán bộ cùng chuyên ngành của các đơn vị trong Viện Hàn lâm, hy vọng trong thời gian tới sẽ có nhiều công bố hơn nữa về đa dạng sinh học và các chất có hoạt tính sinh học của tài nguyên sinh vật khu vực góp phần phát triển kinh tế - xã hội vùng Tây Nguyên.

Liên hệ: **Nguyễn Hữu Toàn Phan**
Viện Nghiên cứu Khoa học Tây Nguyên
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
116, Xô Viết Nghệ Tĩnh, Phường 7, Đà Lạt, Lâm Đồng, Việt Nam
Email: nhtphan@tni.vast.vn.

MỘT SỐ THÀNH TỰU 50 NĂM (1975-2025) VÀ ĐỊNH HƯỚNG NGHIÊN CỨU HÓA SINH BIỂN CỦA VIỆN HẢI DƯƠNG HỌC

Đào Việt Hà
Viện Hải dương học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam,
1, Cầu Đá, Nha Trang, Khánh Hòa, Việt Nam

Ngày gửi bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

1. GIỚI THIỆU

Đầu thế kỷ XX, vào ngày 14 tháng 9 năm 1922, Sở Hải dương học nghề cá Đông Dương đã ra đời theo quyết định của Toàn quyền Đông Dương và sau đó Tổng thống Pháp quyết định nâng cấp thành Viện Hải dương học Đông Dương vào năm 1930, với mục tiêu là *"Khảo sát điều kiện tự nhiên và nguồn lợi sinh vật, kết hợp với việc đánh cá thí nghiệm ở Biển Đông, bao gồm 2 quần đảo Hoàng Sa (Paracels), Trường Sa (Spratly) và Biển Hồ ở Campuchia để xác định chiến lược cho nghề khai thác cá ở Đông Dương; đồng thời triển khai nghiên cứu các công nghệ chế biến và nuôi trồng hải sản"*. Ở giai đoạn này Viện đã có một số nghiên cứu hóa sinh về các hợp chất tự nhiên trong sinh vật biển, nhưng chỉ là nghiên cứu bước đầu như chế biến sản phẩm cá tươi thành bột cá, tách chiết mỡ cá và các loài động vật biển khác, tiêu biểu là công trình nghiên cứu protein và axit amin trong quá trình lên men làm nước mắm của TS. Armand Krempf - nguyên Viện trưởng thời bấy giờ được cấp Bằng sáng chế tại Anh quốc năm 1925 và Bằng sáng chế tại Mỹ năm 1926. Những nghiên cứu này vẫn còn rất ít so với nguồn sinh vật phong phú ở biển, một kho tàng vô tận sản sinh ra các hợp chất tự nhiên ở vùng biển Việt Nam (ION Rapport fontionment 1925-1936; UK Patent No. 208 144A, 1925; Patent USA US1602029A, 1926).

Ngay sau khi đất nước thống nhất, dưới sự chủ trì của Viện Khoa học Việt Nam, trong khuôn khổ Chương trình biển Thuận Hải - Minh Hải (1977-1980), Viện Nghiên cứu biển Nha Trang và Viện Nghiên cứu biển ở Hải Phòng phối hợp với Viện Sinh vật biển Viễn đông (Viện Hàn lâm Khoa học Liên Xô) đã triển khai đề tài "Điều tra thành phần hóa học ở sinh vật biển" với các nội dung nghiên cứu về thành phần hóa học trong rong biển ven bờ Phú Khánh - Thuận Hải, thành phần hóa học của cá măng *Chanos chanos* và một số loài cá đối thuộc họ Mugilidae ở đầm, đìa ven biển tỉnh Phú Khánh, thành phần axit béo và phốtpho lipit của một số loài hải sâm và san hô vùng biển Phú Khánh.[1,2] Trải qua chặng đường 50 năm định hướng nghiên cứu ứng dụng, Viện Hải dương học đã có những công trình nghiên cứu tách chiết các thành phần lipit, axit béo, protein và axit amin, các hoạt tính sinh học tiềm năng trong sinh vật biển đối với hệ miễn dịch, điều trị bệnh, tăng cường sức khoẻ ở người. Hiện nay, Viện luôn tiên phong trong hướng nghiên cứu về độc tố biển và an toàn thực phẩm của Việt Nam và khu vực Tây Thái Bình Dương. Ưu tiên hàng đầu là tìm kiếm và phát triển phương pháp phát hiện, xác định độc tố trong sản phẩm hải sản góp phần đưa ra các thông tin liên quan đến xuất nhập khẩu hải sản theo tiêu chuẩn quốc tế và vấn đề an toàn trong sử dụng thực phẩm có liên quan đến hải sản ở Việt Nam.

2. NHỮNG THÀNH TỰU CHỦ YẾU

2.1. Tìm kiếm các hợp chất sinh học từ nguồn lợi biển Việt Nam

Các đề tài khảo sát nguồn lợi rong từ năm 1977-1980 đã xác định được nguồn lợi rong biển ven bờ từ Minh Hải (Thuận Hải) đến Vũng Tàu có đến 250 loài, rong biển vùng biển Phú Khánh - Minh Hải rất giàu chất dinh dưỡng, đây là nguồn lợi rất có giá trị.[2] Tính từ Bắc vào Nam có khoảng 600 loài rong phân bố rộng khắp từ Quảng Ninh, Hải Phòng, Thanh Hóa,

Nghệ Tĩnh, Bình Trị Thiên, Khánh Hòa và các vùng đảo,... Đặc biệt là nguồn lợi Rong đỏ (Rhodophyta) có thể sử dụng để chế iod, muối kali, làm thực phẩm và phân bón. Rong đỏ còn cung cấp agar và các hợp chất từ agar, được sử dụng rộng rãi trong các ngành công nghiệp, nông nghiệp, trong y dược, quốc phòng và thực phẩm. Nghiên cứu nguồn lợi Rong đỏ đã mở ra lĩnh vực nghiên cứu chuyên sâu về thành phần hóa học cơ bản như protein, khoáng, các nguyên tố vi lượng và hợp chất đặc trưng của rong biển, bao gồm agar-agar, acid alginic và mannitol.[3] Kết quả phân tích các loài Rong đỏ ven biển Việt Nam có hàm lượng protein dao động từ 8,05-21,33%; tổng lượng khoáng khoảng 13-58% đối với loài Rong đỏ, 16-46% đối với Rong nâu, và 27-46% đối với Rong lục, và ghi nhận sự có mặt của 23 nguyên tố hóa học trong rong biển Việt Nam. Hơn thế nữa, các nguyên tố vi lượng cũng rất phong phú, đặc biệt chứa lượng iod cao.[4] Sau đó, hướng thực nghiệm đi sâu hơn về đánh giá sự biến động hàm lượng của các thành phần này ở trong rong theo điều kiện môi trường nuôi rong với các nồng độ và tỷ lệ phân bón đạm và lân (N + P) khác nhau.[5,6] Trên cơ sở đó, các nghiên cứu đã nhận định về giá trị sử dụng của rong biển trong ngành chăn nuôi. Các hợp chất có giá trị sử dụng như agar-agar trong 16 loài rong đỏ ở các vùng biển khác nhau từ Bắc vào Nam đã được nghiên cứu, hàm lượng agar của các loài rong biến đổi trong khoảng từ 23,09-43,40% (trọng lượng khô). Mặt khác, nghiên cứu hàm lượng alginat và acid alginic ở 13 loài Rong mơ (*Sargassum*), thuộc ngành Rong nâu, phân bố phổ biến, có thành phần loài và sản lượng tự nhiên cao, cho thấy, hàm lượng acid alginic khoảng 21,84-47,16%, hàm lượng manitol khoảng 3,20-16,74% trọng lượng khô.[6,7]

Giá trị dinh dưỡng ở một số loài động vật biển như cá măng, cá đối, điệp, sò, ốc và cá ngựa cũng được quan tâm nghiên cứu.[1] Đặc biệt, nghiên cứu cũng phát hiện những hợp chất có hoạt tính sinh học cao (thường ít thấy hoặc không có ở động vật trên cạn) trong sinh vật biển. Các đối tượng này có thể là nguồn cung cấp những dược liệu mới, bổ sung cho nguồn thuốc trên cạn ngày một khan hiếm dần vì đã khai thác từ lâu. Từ những năm 1980, trong các chương trình hợp tác với Liên Xô về điều tra nguồn lợi biển Việt Nam đã ghi nhận hải sâm là đối tượng nghiên cứu thử nghiệm tốt đối với các chất có hoạt tính sinh học ở hiện tượng co cơ.[8] Nghiên cứu thành phần hóa học chủ yếu của loài cá Ngựa (*Hippocampus kuda*) đã xác định được hàm lượng lipid ở phần nội quan cá ngựa rất cao 15,27% ở cá ngựa cái và 14,67% ở cá ngựa đực, cá ngựa còn có các axit amin không thay thế cần thiết cho sự tăng lực và tăng trưởng của cơ thể con người.[9] Các kết quả nghiên cứu đã cho thấy rằng ở các động vật không xương sống biển Việt Nam chứa một nguồn lipid, phospholipid và acid béo phong phú như ở hai loài san hô sừng có hàm lượng lipid tổng số là 0,95% và 1,03% (trọng lượng tươi), còn của san hô mềm, những loài thuộc giống *Sinularia* dao động trong khoảng 1,51-5,81%, ở các loài thuộc giống *Lobophytum* trong khoảng 2,33-3,62% và ở các loài thuộc giống *Sarcophytum* trong khoảng 1,26-3,30%.[10] Hàm lượng lipid của bốn loài cầu gai (thu mẫu tại Nha Trang) nằm trong khoảng 1,64-7,53%, phát hiện 6 loại phospholipid (PC, LPC, PE, PS, PI, DPG) và 22 axit béo trong đó có 5 acid béo no, 4 axit béo không no một nối đôi và 13 axit béo không no nhiều nối đôi ở tuyến sinh dục các loài cầu gai.[11] Một số loài hải sâm được tách chiết và đã có những kết quả nghiên cứu bước đầu về saponin.[12,13] Nghiên cứu các thành phần hóa học đặc trưng chỉ có trong rong, đây cũng là nguồn nguyên liệu quý giá cung cấp các phospholipid và các axit béo không no nhiều nối đôi.[4,14] Về động vật không xương sống biển, đã phát hiện được 16 loài nhuyễn thể (Mollusca) có chứa hợp chất lectin gây ngưng kết hồng cầu.[15] Nhóm hợp chất terpennoid rất đa dạng về cấu trúc và phong phú về hợp chất sinh học đã được nghiên cứu ở một số loài hải miên (Porifera) và có những kết quả bước đầu chiết tách chế phẩm ở dạng thô.[16] Một số đặc điểm hình thái, sinh học sam đã được khảo sát ở loài *Taehypleus tridentatus* là loài phổ biến và có thể là nguyên liệu chính để chiết xuất chế phẩm amoebocyte lysate ở Việt Nam. Bước đầu nghiên cứu một số đặc điểm hình thái, sinh học sam đã được khảo sát ở loài *Taehypleus tridentatus* là loài phổ biến và có thể là nguyên liệu chính để chiết rút chế phẩm amoebocyte lysate có trong tế bào máu sam ở Việt Nam[17] (Hình 1).

Hoạt chất amoebocyte lysate còn ít được phổ biến nhưng có giá trị lớn trong y học, chỉ có trong tế bào máu sam. Mặc dù điều kiện nghiên cứu của nước ta ở giai đoạn này còn hạn chế, song chế phẩm này đã được nghiên cứu khá hoàn chỉnh từ điều tra, phát hiện, xác định hoạt độ chế phẩm tới nghiên cứu quy trình chiết suất ra chế phẩm ở dạng tinh ban đầu. Đồng thời nghiên cứu cơ bản, phân tích thành phần chế phẩm và nghiên cứu ứng dụng, sử dụng chế phẩm này để thử nghiệm (test) phát hiện nội độc tố của một số chế phẩm sinh học.

Nhằm phục vụ hướng phát triển công nghệ thu nhận chế phẩm sinh học biển, Viện đã thực hiện những nghiên cứu về sam, nguồn nguyên liệu để chiết xuất chế phẩm từ động vật biển này. Các nghiên cứu đã cung cấp cơ sở khoa học về nguồn lợi sam biển, ảnh hưởng của một số đặc điểm sinh học, điều kiện sống và thời gian nuôi giữ sam đến hoạt độ chế phẩm thu nhận.[18] Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy hiệu suất của quy trình thu nhận tế bào amoebocyte và chiết xuất chế phẩm amoebocyte lysate phụ thuộc vào nguồn nguyên liệu, thiết bị sử dụng và kỹ thuật tách chiết.

Hình 1. Trích ly máu sam cho nghiên cứu tại
Phòng Hóa sinh, Viện Hải dương học (năm 1992)

2.2. Nghiên cứu độc tố biển và an toàn thực phẩm phục vụ an sinh xã hội và xuất khẩu thủy sản

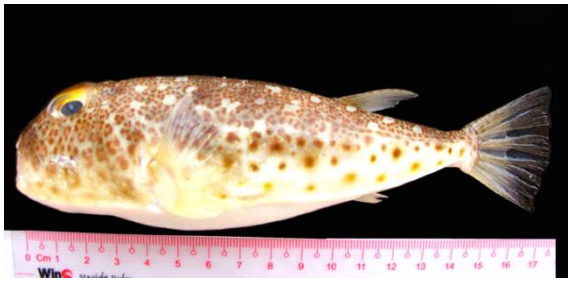
Từ năm 1994, an toàn thực phẩm biển được quan tâm khi các vụ ngộ độc cá nóc xảy ra liên tục. Các nghiên cứu bước đầu tìm hiểu độc tố tetrodotoxin trong 4 loài cá nóc thường gặp tại Việt Nam và xác định độc lực độc tố này ở các bộ phận khác nhau (gan, trứng, tinh sào và thịt) của cá Nóc (Tetraodontidae).[19] Sau đó, Đào Việt Hà và cs.[20] đã công bố kết quả nghiên cứu đặc tính của độc tố TTX trong một số loài cá Nóc thường gặp tại vùng biển Việt Nam (Hình 2).

Cá Nóc vằn (*T. oblongtus*) biểu hiện độc tính cao nhất, thể hiện ở cả giá trị trung bình và độc tính cực đại có thể bắt gặp (tuyến sinh dục: 2063,9 MU/g). Cá Nóc chấm cam (*T. gloerfelti*) cũng biểu hiện độc tính khá cao, tiếp theo là cá Nóc đầu thỏ chấm tròn (*L. saleratus*). Độc tính của 03 loài cá Nóc này tương đương với độc tính của một số loài cá Nóc thu từ các nước vùng nhiệt đới khác như Philippines,[21] Thái Lan.[22] Loài cá Nóc tro (*L. lunaris*) biểu hiện độc tính trung bình, tiếp theo là cá Nóc răng mỏ chim (*L. inermis*), loài cá Nóc vàng (*L. spad*) có độc tính yếu hơn cả ở tất cả các bộ phận cơ thể. Khi so sánh với kết quả nghiên cứu tại một số quốc gia khác, 02 loài Nóc tro và Nóc răng mỏ chim trong nghiên cứu này có độc tính thấp hơn độc tính trong cùng loài thu tại Nhật Bản và Philippines.[21,23] Sự khác biệt này rõ ràng do tính biến động theo vùng địa lý[24] trong mối liên quan chặt chẽ đến điều kiện môi trường sống.[25-30]

Nghiên cứu về độc tố vi tảo được bắt đầu tại Việt Nam từ năm 1997 bởi Viện Hải dương học, Viện Tài nguyên và Môi trường biển (Viện Hàn lâm KHCNVN); Viện Nghiên cứu Hải sản (Bộ NNPTNT) trong khuôn khổ một số chương trình hợp tác quốc tế (ASEAN-Canada, DANIDA Đan Mạch, IOC và JPSP Nhật Bản). Cũng vào thời điểm này, Bộ NNPTNT đã thiết lập và triển khai chương trình giám sát hàm lượng độc tố tảo trong các loài hai mảnh vỏ xuất khẩu để đáp ứng tiêu chuẩn của thị trường quốc tế. Cùng với điều tra phát hiện được một số loài tảo đơn bào có khả năng gây độc ở vùng biển Khánh Hòa,[31] nghiên cứu về độc tố vi tảo (phytotoxin) như độc tố PSP (Paralytic Shellfish Poisoning toxin) và DSP (Diarrhetic Shellfish Poisoning toxin)[32,33] trong một số động vật hai mảnh vỏ đã có những kết quả mở đầu cho hướng nghiên cứu về an toàn thực phẩm biển ở Việt Nam. Từ năm 2000, Viện Hải dương học nghiên cứu về độc tố sinh vật biển gây ngộ độc thực phẩm tại Việt Nam. Kết quả được công bố trong các tạp chí quốc tế và trong nước về bản chất độc tố trong loài So (*Carcinoscopius rotundicauda*),[34] mực tuộc Đốm xanh (*Hapalochlaeta nulunata*)[35] và một số loài cá Nóc biển.[20] Các nghiên cứu xác định bản chất và thành phần độc tố trong một số loài sinh vật biển gây ra các vụ ngộ độc thực phẩm tại Việt Nam.

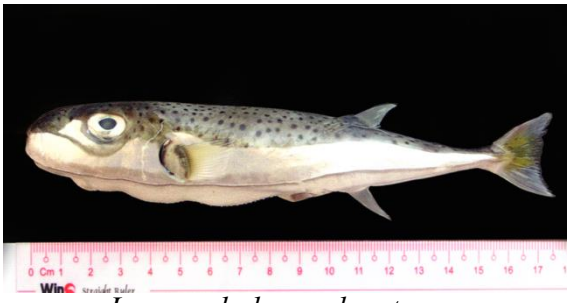
Takifugu oblongtus

Lagocephalus inermis



Torquigener gloerfelti

Lagocephalus lunaris



Lagocephalus scelaratus

Lagocephalus spadiceus

Hình 2. Các loài cá Nóc tại Việt Nam điển hình chứa độc tố tetrodotoxin[20]

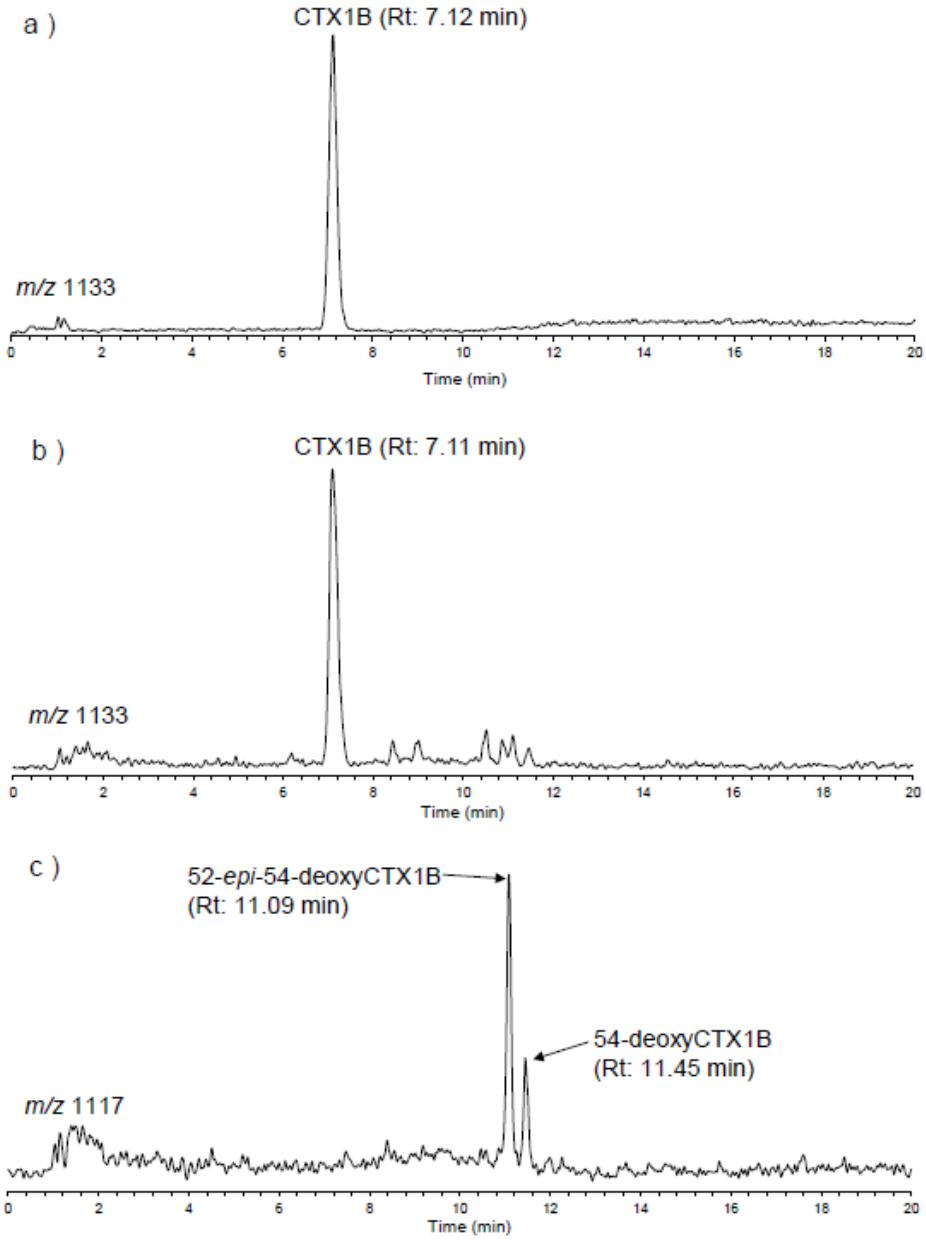
Ngộ độc CFP do tiêu thụ các loài cá biển sống rạn hiện đang là vấn đề "nóng" trên toàn thế giới. Theo thống kê của FAO, hằng năm có khoảng 20.000-30.000 vụ ngộ độc CFP, phần lớn tập trung tại các vùng biển nhiệt đới và cận nhiệt. Các loài cá rạn - đối tượng chính tích luỹ và trung chuyển độc tố gây ngộ độc CFP cho con người là những sinh vật có vùng di

chuyển rộng, do đó không thể xác định được xuất xứ của cá đánh bắt từ vùng biển nhất định. Tại Việt Nam, trước 2007 chưa có ghi nhận về ngộ độc CFP, có thể do hạn chế về mặt thông tin khoa học cũng như năng lực nghiên cứu đối với độc tố liên quan đến dạng ngộ độc này. Năm 2007, ca ngộ độc nghi ngờ CFP đầu tiên được ghi nhận tại Phan Rang ở một gia đình gồm 5 người sau khi ăn cá Hồng. Sau đó, khoảng tháng 4 cho đến tháng 9 hằng năm đều ghi nhận được các vụ ngộ độc tương tự xảy tại Bình Định, Quảng Ngãi, Khánh Hoà, Bình Thuận, thậm chí TP. Hồ Chí Minh và Hà Nội. Theo các bác sĩ quân y, triệu chứng ngộ độc sau khi ăn cá Hồng được mô tả rất giống CFP cũng đã xảy ra đối với bộ đội Trường Sa. Báo cáo sự xuất hiện của độc tố CTXs trong sản phẩm cá Hồng phi lê của Việt Nam tại hội thảo quốc tế về an toàn thực phẩm biển 2012 là sự cảnh báo nguy cơ ảnh hưởng đến ngành thuỷ sản xuất khẩu của nước ta. Từ những thực tế này, ngộ độc do tiêu thụ cá Hồng và một số loài cá rạn khác là nguy cơ hiện hữu tại Việt Nam trong khi hướng nghiên cứu về độc tố trong nhóm đối tượng này lại là mảng trống. Mặt khác, ngộ độc thực phẩm do ăn ốc biển đã được ghi nhận lần đầu tiên tại Việt Nam năm 2006 tại Quảng Ngãi, và sau đó rải rác các vụ ngộ độc tương tự kèm theo tử vong vẫn xảy ra hàng năm tại các tỉnh ven biển miền Trung. Người dân các vùng ven biển vẫn có thói quen tự đánh bắt và tiêu thụ các loài ốc biển, nhưng không phải trường hợp nào cũng bị ngộ độc mặc dù cùng một loài và cùng một vùng biển. Tính chất ngẫu nhiên này là khó khăn của công tác truyền thông, giáo dục cộng đồng tại Việt Nam. Từ những thực trạng trên, nghiên cứu về độc tố trong cá rạn và thân mềm tại vùng biển Việt Nam có tiền sử hoặc nghi ngờ gây ngộ độc thực phẩm nhằm cảnh báo nguy cơ từ các động vật biển này được triển khai. Đây là nghiên cứu đầu tiên về độc tố trong các loài cá rạn và thân mềm biển tại Việt Nam và khu vực Tây Thái Bình Dương. Kết quả, đã xác định được sự có mặt của Ciguatoxin-1B (CTX-1B) và 02 đồng phân 54-deoxyCTX-1B và 52-epi-54-deoxyCTX-1B trong mẫu vật cá Hồng hai chấm (*Lujanus bohar*) gây ra 02 vụ ngộ độc thực phẩm tại Việt Nam 2014 và 2016.[36] Cùng với các triệu chứng ngộ độc CFP điển hình của các nạn nhân, khẳng định CTX-1B là độc tố gây ra 02 vụ ngộ độc thực phẩm cá Hồng ở nước ta. Với hàm lượng độc tố CTX-1B phát hiện trong 02 mẫu này, ước tính 19-78 g mẫu đủ gây ngộ độc CFP.

Độc tố CTX-1B cũng bước đầu được ghi nhận ngẫu nhiên trong một số mẫu vật của 05 loài cá Lịch (cá Lịch diềm vàng (*G. flavimarginatus*), cá Lịch Java (*G. javanicus*), cá Lịch vân sóng (*G. undulatus*), cá Lịch chấm tia (*G. fimbriatus*) và *Siganus guttatus*) thu thập từ 03 vùng biển Lý Sơn - Quảng Ngãi, Trường Sa - Khánh Hoà và Ninh Hải - Ninh Thuận (Hình 3 và Bảng 1). Hàm lượng CTX-1B trong một số mẫu vật này tương đương với hàm lượng phát hiện trong mẫu vật cá Hồng (*L. bohar*) gây ra 02 vụ ngộ độc thực phẩm 2014 và 2016, đã chỉ ra nguy cơ ngộ độc CFP cho người tiêu thụ đối với một số loài cá Lịch biển tại Việt Nam. Đáng chú ý, với hàm lượng nhất định của độc tố CTX-1B được phát hiện trong mẫu vật loài cá Hồng hai chấm (*L. bohar*) thu thập từ vùng biển Ninh Hải - Ninh Thuận khẳng định đây là loài đặc biệt có nguy cơ rất cao gây CFP tại Việt Nam.

Nghiên cứu đã xác định tetrodotoxin (TTX) là độc tố trong 03 loài ốc Bùn *N. glans, N. conoidalis* và *N. pullus* thu thập tại Khánh Hoà (Hình 4).[37] Kết quả này xác nhận các vụ ngộ độc do tiêu thụ các loài ốc biển ghi nhận tại Việt Nam là do độc tố TTX gây ra. Với tần suất 100% các mẫu vật thu thập đều chứa độc tố ở hàm lượng cao hơn ngưỡng an toàn được Nhật Bản đề xuất (10 MU/g) đối với độc tố này trong thực phẩm biển, kết quả này khẳng định 03 loài ốc Bùn *N. glans, N. conoidalis* và *N. pullus* tại nước ta là loài độc, không an toàn thực phẩm, cần được cảnh báo việc đánh bắt và tiêu thụ, đặc biệt loài *N. glans* có độc tính cao có thể gây ngộ độc tử vong cho con người. Đặc biệt, loài *N. glans* có độc tính cao, chỉ cần tiêu thụ 12-13 g mô mềm (ứng với 5-6 cá thể ốc) với độc tính này có thể gây tử vong cho người. Nguồn gốc của độc tố trong các loài ốc biển hiện nay chưa được biết rõ ràng, do tính chất khá phức tạp - không phải tất cả các cá thể trong cùng một loài đều mang độc tố và độc tính cũng rất khác biệt theo từng cá thể. Rất có thể độc tố của ốc biển cũng có nguồn gốc từ các vi sinh vật cộng sinh (tương tự trường hợp độc tố của cá Nóc). Vấn đề này đang là một thách thức đối

với các nhà nghiên cứu về độc tố biển, không chỉ ở Việt Nam mà trên cả phạm vi châu Á và thế giới.



Hình 3. Sắc ký đồ SIM LC/MS cho $[M+Na]^+$ của ciguatoxin (CTX) thu được từ dịch chiết mẫu vật cá Hồng hai chấm *Lutjanus bohar* trong vụ ngộ độc CFP năm 2014. a) CTX-1B chuẩn; b) CTX-1B trong dịch chiết; c) 52-epi-54-deoxy CTX-1B và 54-deoxy CTX-1B trong dịch chiết. Rt: Thời gian lưu[36]

Mặt khác, hướng nghiên cứu độc tố gây ngộ độc CFP tại Việt Nam trước đây còn hạn chế về trang thiết bị phân tích chuyên sâu và sự tiếp cận, cập nhật phương pháp phân tích hiện đại của thế giới. Gần đây, Viện Hàn lâm KHCNVN đầu tư phòng thí nghiệm trọng điểm cấp Viện Hàn lâm KHCNVN về An toàn thực phẩm và Môi trường (khu vực miền Trung) tại Viện Hải dương học bao gồm hệ thống thiết bị có thể sử dụng cho phân tích độc tố CTXs. Viện Hải dương học đã phát triển thành công quy trình phân tích độc tố CTXs trong cá rạn ở điều kiện PTN Việt Nam nhằm kiện toàn năng lực nghiên cứu cho Việt Nam để ứng phó với những tình huống mới về nguy cơ ngộ độc thực phẩm. Nhóm nghiên cứu đã xây dựng được quy trình

thực nghiệm phân tích độc tố Ciguatoxins trong điều kiện Việt Nam sử dụng hệ thống thiết bị Shimadzu LCMS 8040 đáp ứng được yêu cầu phát hiện độc tố CTX-1B (0,01 ppb) trong mẫu cơ/thịt cá rạn san hô.

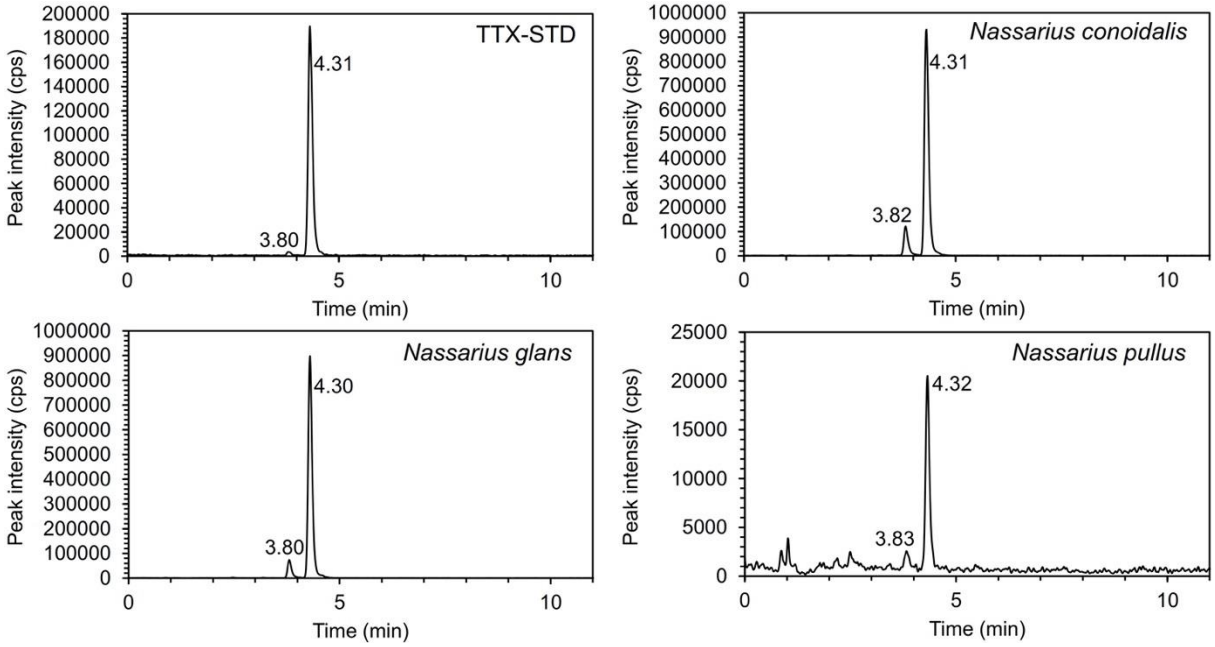
Bảng 1. Độc tố CTX-1B trong mẫu vật Chình biển thu thập tự nhiên[36]

TT	Địa điểm thu mẫu	Thời gian thu mẫu	Loài	Mẫu vật	CTX-1B (ng/g)	Số mẫu vật độc/ Số mẫu vật thu	Số loài độc/Số loài thu
1	Lý Sơn - Quảng Ngãi	3, 5/2020	Cá Lịch chấm tia (*G. fimbriatus*)	1	0,77	2/4	2/9
2				2	2,70		
3			Cá Lịch vân sóng (*G. undulatus*)	1	3,39	2/17	
4				2	3,66		
5	Trường Sa - Khánh Hoà	3/2018	Cá Lịch diềm vàng (*G. flavimarginatus*)	1	1,23	5 /28	3/3
6				2	2,63		
7				3	4,67		
8				4	0,24		
9				5	1,55		
10			Cá Lịch java (*G. javanicus*)	1	6,07	1/6	
11			Cá Lịch vân sóng (*G. undulatus*)	1	0,86	1/3	
12	Ninh Hải - Ninh Thuận	5/2018	Cá Lịch (*S. guttatus*)	1	3,96	1/3	1/3
13		3/2018	Cá Hồng hai chấm (*L. bohar*)	1	3,95	2/5	1/4
14				2	2,76		

Với sự tập hợp các cán bộ khoa học trong Viện, sau đón nhóm tiếp tục xây dựng một số quy trình phân tích trên các thiết bị phân tích đã được đào tạo bao gồm Quy trình thực nghiệm phân tích độc tố vi tảo gây liệt cơ (Saxitoxin) trong hai mảnh vỏ sử dụng thiết bị LC/MS-MS tại phòng thí nghiệm an toàn thực phẩm và Quy trình thực nghiệm phân tích độc tố tetrodotoxins sử dụng thiết bị LC/MS-MS tại phòng thí nghiệm an toàn thực phẩm.

Hiện nay, khi ngộ độc thực phẩm do độc tố vi tảo đã trở thành vấn đề toàn cầu, đe dọa tính mạng con người, hệ sinh thái biển và nền kinh tế, hướng nghiên cứu được các tổ chức quốc tế khuyến khích ưu tiên hàng đầu là tìm kiếm và phát triển phương pháp thử nghiệm nhanh sự có mặt của độc tố vi tảo trong sản phẩm hải sản. Một trong những phương pháp thử nghiệm sinh học cấp độ tế bào được phát triển và ứng dụng trong thời gian gần đây là phương pháp miễn dịch học sử dụng enzyme gắn kết (Enzyme Link Immunoassay - ELISA) theo nguyên lý xác định kiểu huyết thanh của độc tố, dựa vào phản ứng chuyên biệt của kháng thể kháng các kháng nguyên (độc tố). ELISA cung cấp thông tin về số lượng các phân tử độc tố trong mẫu thử nghiệm, trên cơ sở xác định số phân tử tham gia phản ứng kết hợp với kháng thể đặc hiệu. Sản phẩm về Bộ kit phát hiện nhanh một số độc tố vi tảo trong sản phẩm thủy sản đã được Cục Sở hữu trí tuệ cấp 01 bằng độc quyền giải pháp hữu ích, Số 1954: Phương pháp chế tạo kit phát hiện độc tố mất trí nhớ tạm thời không phục hồi ở người (ASP) và kit được chế tạo theo phương pháp này, theo Quyết định số 94366/QĐ-SHTT ngày 25/12/2018" (Hình 5). Với độ nhạy tốt, thời gian thực hiện nhanh, không đòi hỏi trang thiết bị chuyên sâu

đắt tiền, ELISA do nhóm nghiên cứu của Viện Hải dương học là một ứng viên hứa hẹn sẽ đáp ứng nhu cầu điều tra nghiên cứu và giám sát độc tố vi tảo trên thế giới.



Hình 4. Sắc ký đồ HPLC/MRM (*m/z* 320 > 302) của độc tố TTX chuẩn (nồng độ 0,5 µg/mL) và trong dịch chiết từ 03 loài ốc Bùn *Nassarius conoidalis*, *N. glans*, *N. pullus* thu tại Vạn Ninh, Khánh Hoà[37]

Hình 5. Bộ kit phát hiện độc tố mất trí nhớ tạm thời không phục hồi ở người (ASP) - ELISA

3. NHỮNG THÀNH TỰU VỀ HỢP TÁC QUỐC TẾ

Lần đầu tiên Viện Hải dương học có được phòng thí nghiệm (PTN) với hệ thống thiết bị nghiên cứu hiện đại đồng bộ nhằm kiểm tra, cảnh báo sớm, giám sát an toàn thực phẩm và phân tích môi trường tại khu vực miền Trung, với độ chính xác cao phục vụ cho phát triển nghiên cứu khoa học công nghệ của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cũng như trong phối hợp với các đơn vị khác trong nước và quốc tế. Trong khuôn khổ hợp tác quốc tế về đào tạo tăng cường năng lực hải dương học, các nhà khoa học của Việt Nam trong lĩnh vực an toàn thực phẩm biển đã dẫn dắt và tham gia nhiều dự án cấp khu vực như: Dự án nghiên cứu độc tố biển và an toàn thực phẩm biển của IOC/WESTPAC. Hưởng ứng sáng kiến nâng cao năng lực khoa học biển thông qua "Mạng lưới các Trung tâm đào tạo và nghiên cứu khu vực (viết tắt là RTRCs)" về khoa học biển ở Tây Thái Bình Dương và các khu vực lân cận. Viện Hải dương học đang từng bước phát triển nguồn nhân lực và hoàn thiện các quy

trình về việc thành lập Trung tâm đào tạo và nghiên cứu khu vực (RTRC) về độc tố biển và an toàn thực phẩm biển trong mạng lưới đào tạo của IOC/WESTPAC (Hình 5, 6).

Hình 5. PGS.TS. Đào Việt Hà hướng dẫn các nhà khoa học trẻ đến từ các nước trong khu vực Tây Thái Bình Dương, trong khóa đào tạo của IOC/WESTPAC về phân tích độc tố Ciguatoxin tại Phòng Thí nghiệm trọng điểm cấp Viện Hàn lâm KHCNVN về an toàn thực phẩm và môi trường (khu vực miền Trung), Viện Hải dương học, tháng 8/2018

Hình 6. PGS.TS. Đào Việt Hà đào tạo và thảo luận về kết quả xác định độc tố biển cùng nhóm nghiên cứu Viện Hải dương học tại Phòng Thí nghiệm trọng điểm cấp VHL về An toàn thực phẩm và môi trường (Khu vực miền Trung), năm 2023

Khởi điểm bằng những nghiên cứu mang tính chất thí điểm trong phạm vi hẹp do thiếu trang thiết bị chuyên sâu về Hóa sinh biển nói chung và độc tố biển nói riêng; sau nhiều năm dày công tích lũy kiến thức và kinh nghiệm, cùng với sự quan tâm, đầu tư nhất định của Nhà nước, của Viện Hàn lâm KHCNVN, hiện nay, Viện đang đi tiên phong tại Việt Nam và khu vực Tây Thái Bình Dương về nghiên cứu độc tố và an toàn thực phẩm biển, đã từng bước giải quyết những khó khăn về cách tiếp cận và phương pháp nghiên cứu. Bộ kit ELISA phát hiện nhanh độc tố vi tảo gây mất trí nhớ tạm thời ở người (độc tố ASP, domoic acid-DA) do ứng viên (tác giả chính) và nhóm nghiên cứu phát triển đã được Cục Sở hữu trí tuệ, Bộ KHCN cấp bằng Giải pháp hữu ích 1954 ngày 25/12/2018. Kết quả này mở ra cơ hội cho Việt Nam chủ động trong ứng dụng công nghệ sản xuất bộ kit thay thế sản phẩm ngoại nhập với ưu thế về giá thành thấp và độ nhạy cao, có thể ứng dụng trong giám sát độc tố thủy sản, góp phần nâng cao giá trị của các mặt hàng xuất khẩu của Việt Nam. Mặt khác, các quy trình thực nghiệm xác định độc tố biển được ứng viên chủ trì phát triển thành công đã góp phần tạo nền móng và kiện toàn năng lực nghiên cứu về độc tố biển cho Việt Nam; và mở rộng trong khu vực Tây Thái Bình Dương, được các nước thành viên trong khu vực (Malaysia, Thái lan, Philippines, Trung Quốc) học hỏi, áp dụng. Những hoạt động này đã góp phần kiện toàn năng lực nghiên cứu độc tố biển và an toàn thực phẩm, mở ra giai đoạn Việt Nam hoàn toàn chủ động trong hoạt động nghiên cứu khoa học công nghệ biển và vươn lên vị trí hàng đầu của khu vực Tây Thái Bình Dương, góp phần khẳng định năng lực và uy tín khoa học của Việt Nam đối với thế giới và phục vụ công cuộc bảo vệ chủ quyền biển đảo của đất nước.

4. ĐỊNH HƯỚNG PHÁT TRIỂN

Các nghiên cứu độc tố và các chất hoạt tính sinh học khác từ sinh vật biển và khả năng ứng dụng của chúng trong thực tiễn đời sống đã được quan tâm triển khai trong các đề tài nghiên cứu từ năm 2012 đến nay. Nhằm tăng cường hợp tác quốc tế và nâng cao năng lực khoa học biển của Việt Nam trong lĩnh vực hoá sinh an toàn thực phẩm biển, Phòng Thí nghiệm trọng điểm cấp Viện Hàn lâm KHCNVN về An toàn thực phẩm và Môi trường (khu vực miền Trung) được thành lập theo Quyết định số 579/QĐ-HDH do Viện trưởng Viện Hải dương học ký ngày 10/10/2018, với các tiêu chuẩn cụ thể như sau:

- Phòng thí nghiệm đạt tiêu chuẩn chất lượng, kết quả phân tích với độ chính xác cao phục vụ cho các cơ quan quản lý về an toàn thực phẩm và môi trường, đáp ứng được nhu cầu của xã hội; hướng tới phòng thí nghiệm trọng tài giải quyết các tranh chấp trong lĩnh vực môi trường và an toàn thực phẩm.

- Phát triển các hướng nghiên cứu ứng dụng trong lĩnh vực an toàn thực phẩm như phương pháp phân tích, sự phơi nhiễm và tác động của các độc chất đến sức khỏe con người,...

- Nghiên cứu một số vấn đề cấp bách về an toàn thực phẩm hiện nay như phụ gia thay thế một số phụ gia hóa chất hiện nay đang gây hại cho thực phẩm; những yếu tố độc hại trong môi trường,...

- Phát triển dịch vụ khoa học công nghệ cho các cá nhân và tổ chức trong các lĩnh vực liên quan đến thực phẩm và môi trường.

Tiếp nối hành trình 50 năm xây dựng và phát triển hướng nghiên cứu hóa sinh biển, Viện Hải dương học định hướng những nghiên cứu sâu hơn về độc tố biển và an toàn thực phẩm của Việt Nam và khu vực Tây Thái Bình Dương, bao gồm tìm hiểu nguyên nhân và cơ chế tích lũy độc tố trong sinh vật biển và tiềm năng ứng dụng Y dược của độc tố. Mặt khác, nghiên cứu nhằm thu nhận các chất có hoạt tính sinh học từ sinh vật biển cũng được chú trọng nhằm phát triển các sản phẩm điều trị bệnh, tăng cường sức khoẻ đối với con người, nâng cao chất lượng cuộc sống.

Lời cảm ơn. Bài báo là kết quả của nhiệm vụ mã số TĐĐTMT.03/24-26. Tác giả chân thành gửi lời cảm ơn Lãnh đạo Viện Hàn lâm KHCNVN đã định hướng và hỗ trợ Viện Hải dương học trong hướng nghiên cứu hóa sinh biển. Tác giả cũng bày tỏ lời cảm ơn các đồng nghiệp, đối tác trong nước và quốc tế đã chung tay trong từng đề tài nghiên cứu hóa sinh biển và đào tạo năng lực của Viện Hải dương học. Công trình này góp phần chào mừng 50 năm ngày thành lập Viện Hàn lâm Khoa học và công nghệ Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Kim Hùng. Điều tra thành phần hóa học ở sinh vật biển, vùng biển Thuận Hải-Minh Hải - Một số dẫn liệu về rong biển Báo cáo tổng kết các chương trình điều tra nghiên cứu biển cấp Nhà nước 1977-2000, Tập 1: Chương trình biển Thuận Hải - Minh Hải 1977-1980, **1980**, 206.
2. Đặng Ngọc Thanh. Thông tin các chương trình điều tra nghiên cứu biển cấp Nhà nước 1977-2000. Đề tài số 15: Điều tra thành phần hóa học ở sinh vật biển, Báo cáo tổng kết các chương trình điều tra nghiên cứu biển cấp Nhà nước 1977-2000, Tập 1: Chương trình biển Thuận Hải - Minh Hải 1977-1980, **2001**, 38.
3. Hoàng Cường, Lâm Ngọc Trâm, Phan Phương Lan. Thành phần hóa học của rong biển ở vùng ven biển Hải Phòng, *Tuyển tập Nghiên cứu biển* **1980**, *2*, 31.
4. Lâm Ngọc Trâm, Nguyễn Văn Thiệu, Đỗ Tuyết Nga, Lưu Thị Hà, Nguyễn Kim Đức. Thành phần hóa học trong các loài rong biển vùng biển Phú Yên - Khánh Hòa - Minh Hòa, *Tuyển tập Nghiên cứu biển* **1991**, *3*, 192.
5. Lâm Ngọc Trâm. Một vài dẫn liệu về ảnh hưởng của các nồng độ và tỷ lệ phân bón (N+P) đến sự tích lũy một số thành phần hóa học chủ yếu trong rau câu chỉ vàng *Gracilaria verrucosa* trong các ao đầm nuôi trồng thí nghiệm, Báo cáo khoa học, Viện nghiên cứu Biển Nha Trang, **1976**.
6. Nguyễn Kim Đức. Biến động hàm lượng Acid alginic và chất lượng alginat natri của hai loài Rong mơ (*Sargassum*) vùng biển Hòn Chồng Nha Trang, *Tuyển tập Nghiên cứu biển* **1991**, *3*, 208.

7. Nguyễn Hữu Đại, Lâm Ngọc Trâm, Ngô Đăng Nghĩa. Nguồn lợi Rong mơ và ý nghĩa kinh tế của chúng, Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị Sinh học biển toàn quốc lần thứ nhất, **1997**, 345.
8. B. N. Manukhin, L. N. Tram. Adaptive changes of cholinergic reaction in *Holothurian muscle, Journal of Evolutionary Biochemistry Physiology*, **1983**, *19*, 25.
9. Đỗ Tuyết Nga, Nguyễn Kim Đức, Lưu Thị Hà, Lâm Ngọc Trâm, Trương Quang Dũng. Thành phần hóa học chủ yếu của loài cá ngựa *Hippocampus kuda* Bleeker vùng biển Nha Trang, Khánh Hòa, *Tuyển tập Nghiên cứu biển* **1994**, *V*, 147.
10. Lâm Ngọc Trâm, Nguyễn Kim Hùng, Nguyễn Thị Lĩnh, Đỗ Tuyết Nga, I. V. Svetashev, N. A. Latyshev, V. P. Dicarev. Thành phần phospholipid và axit béo của san hô mềm (Alcyonacea) vùng biển Khánh Hòa, *Tuyển tập Nghiên cứu biển* **1991**, *III*, 217.
11. Lâm Ngọc Trâm, Bùi Huy Khoa, Đỗ Tuyết Nga, Trương Quang Dũng. Thành phần phospholipid và axit béo của cầu gai (Echinoidea) vùng biển Nha Trang – Khánh Hòa, *Tạp chí Sinh học*, **1993**, *15*, 41.
12. Nguyễn Hữu Khôi, Cao Phương Dung, Lưu Thị Hà, Hà Văn Tà. Sàng lọc saponin ở một số loài hải sâm vùng biển Nha Trang, *Thông báo Khoa học, Viện Khoa học Việt Nam*, **1986**, *1*.
13. Cao Phương Dung, Lưu Thị Hà. Thử nghiệm hoạt tính saponin lên sự phát triển của phôi cầu gai, *Tạp chí Sinh học*, **1993**, *15*, 35.
14. Lâm Ngọc Trâm, Đỗ Tuyết Nga, Trịnh Đức Hạnh. Thành phần phospholipid và axit béo của rong biển Việt Nam, Chương trình nghiên cứu khoa học cơ bản, Đề tài KT. 04.05.03.11, Viện Nghiên cứu biển Nha Trang, **1993**.
15. Cao Phương Dung, Lưu Thị Hà, Nguyễn Quốc Khang. Kết quả bước đầu điều tra lectin nhuyễn thể vùng biển Nha Trang - Phú Khánh, *Tạp chí Sinh học*, **1991**, *10*, 37.
16. Cao Phương Dung. Kết quả chiết thô terpenoid từ Hải miên biển Việt Nam, *Tạp chí Sinh học*, **1996**, *18*.
17. Nguyễn Phi Đính, Lâm Ngọc Trâm. Đặc điểm hình thái và sinh học sam vùng biển Khánh Hòa, *Tạp chí Sinh học*, **1992**, *14*, 26.
18. Lâm Ngọc Trâm. Một số kết quả nghiên cứu triển khai quy trình chiết xuất chế phẩm *Amoebocyte lysate* từ máu Sam, Đề tài 10 - Chương trình Biển - Hải đảo, *Vi máu Sam, Đề tài*, **1996**, *27*.
19. Đỗ Tuyết Nga, Phạm Xuân Kỳ, Đào Việt Hà. Theo dõi độc tố tetrodotoxin (TTX) trong ba loài cá Nóc thu ở Cửa Bé (Nha Trang, Khánh Hòa) theo tháng trong năm 2002, *Tuyển tập Nghiên cứu biển*, **2004**, *14*, 139.
20. V. H. Dao, N. T. Dung, N. T. Hong, Y.Takata, S. Sato, M. Kodama, Y. Fukuyo. High individual variation in the toxicity of three species of marine puffer in Vietnam, *Coast. Mar. Sci.*, **2012**, *35*, 1.
21. S. Sato, T. Ogata, V. Borja, C. Gonzales, Y. Fukuyo, M. Kodama. Frequent occurrence of paralytic shellfish poisoning toxins as dominant toxins in marine puffer from tropical water, *Toxicon*, **2000**, *38*, 1101. https://doi.org/10.1016/S0041-0101(99)00223-8.
22. S. Brillantes, W. Samosorn, S. Faknoi, Y. Oshima. Toxicity of puffers landed and marketed in Thailand, *Fisheries Sci.*, **2003**, *69*, 1224, https://doi.org/10.1111/j.0919-9268.2003.00749.x.
23. M. Kodama, T. Ogata. Toxicity of a fresh water puffer *Tetrodon lerurus*, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **1984**, *50*, 1949, https://doi.org/10.2331/suisan.50.1949.

24. S. Kanoh. Distribution of tetrodotoxin in vertebrates, *Recent Advances in Tetrodotoxin Research*, **1988**, *32*.
25. Y. Hashimoto. Marine Toxins and other bioactive marine metabolites, Japan Scientific Societies Press, **1979**.
26. R. Endo. Toxicological studies on puffer fishes:comparison of toxicities in the various species, *J. Toxicol. Sci.*, **1984**, *9*, 1, https://doi.org/10.2131/jts.9.supplementi_1.
27. S. S. Khora, J. Isa, T. Yasumoto. Toxicity of puffers from Okinawa, Japan, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **1991**, *57*, 163, 10.2331/suisan.57.163.
28. C. F. Yu, P. H. F. Yu. The annual toxicological profiles of two common puffer fish, *Takifugu niphobles* (Jordan and Snyder) and *Takifugu alboplumbeus (*Richardson), collected along Hong Kong coastal waters, *Toxicon* **2002**, *40*, 313, https://doi.org/10.1016/S0041-0101(01)00208-2.
29. P. H. F. Yu, C. F. Yu. The toxicological study of puffer fishes in Hong Kong (in Chinese), *J. Fish. China*, **1998**, *22*, 382.
30. Y. Nagashima, N. Tanaka, K. Shimakura, K. Shiomi, Y. Shida. Occurrence of tetrodotoxin-related substances in the nontoxic puffer *Takifugu xanthopterus, Toxicon*, **2001**, *39*, 415, https://doi.org/10.1016/S0041-0101(00)00136-7.
31. Nguyễn Ngọc Lâm, Đoàn Như Hải. Sự phân bố và mật độ phytoplankton có khả năng gây độc ở ven biển Khánh Hòa, Báo cáo đề tài cơ sở, *Viện Hải dương học,* **1996**.
32. Đỗ Tuyết Nga, Lâm Ngọc Trâm, Cao Phương Dung, Lưu Thị Hà, Đào Việt Hà, Phạm Xuân Kỳ. Bước đầu nghiên cứu độc tố Diarrhetic Shellfish Poisons (DSP) từ một số loài hai mảnh vỏ ở vùng biển Nha Trang và Phan Thiết, *Tuyển tập Nghiên cứu biển,* **1999**, *9*, 286.
33. Đào Việt Hà. Độc tố tảo và tác hại của chúng, Tuyển tập báo cáo khoa học Hội thảo động vật thân mềm toàn quốc lần thứ 2, Nha Trang ngày 03-04/8/2001, **2003**, 197.
34. H. V. Dao, Y. Takata, S. Sato, Y. Fukuyo, M. Kodama. Frequent occurrence of the tetrodotoxin-bearing horseshoe crab *Carcinoscorpius rotundicauda* in Vietnam, *Fisheries Sci.*, **2009**, *75*, 435, https://doi.org/10.1007/s12562-008-0041-5.
35. Đào Việt Hà, M. Kodama, S. Sato. Tetrodotoxin as a major toxin in the blue-ringed octopus *Hapalochlaeta nulunata* collected in Vietnam, Tuyển tập Hội nghị Khoa học toàn quốc lần thứ 1 về Sinh học biển và phát triển bền vững, NXB Khoa học tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội. 21-22/10/2009, **2009**, 692.
36. D. V. Ha, A. Uesugi, H. Uchida, P. X. Ky, D. Q. Minh, R. Watanabe, R. Matsushima, H. Oikawa, S. Nagai, M. Iwataki, Y. Fukuyo, T. Suzuki. Identification of Causative Ciguatoxins in red *Snappers lutjanus* Bohar implicated in ciguatera fish poisonings in Vietnam, *Toxins (Basel)*, **2018**, *10*. https://doi.org/10.3390/toxins10100420.
37. D. V. Ha, K. H. Le Ho, X. K. Pham, Q. N. Bui, P. A. Nguyen, B. V. Phan, T. T. Doan. Frequent occurrence of tetrodotoxin in the marine gastropod *Nassarius glans* causing a food poisoning in Khanh Hoa province, Vietnam in 2020, *Vietnam J. Mar. Sci. Technol.*, **2023**, *23*, 203, https://doi.org/10.15625/1859-3097/18080.

Liên hệ: **Đào Việt Hà**
Viện Hải dương học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam,
1, Cầu Đá, Nha Trang, Khánh Hòa, Việt Nam
Email: daovietha69@gmail.com.

HOẠT ĐỘNG CỦA BẢO TÀNG THIÊN NHIÊN VIỆT NAM GIAI ĐOẠN 2018-2024

Nguyễn Trung Minh, Đỗ Thị Hải, Hoàng Thị Nga, Phạm Hồng Thái, Phùng Quốc Khánh, Phan Kế Long*

Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày gửi bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Bảo tàng cấp quốc gia, đứng đầu trong Hệ thống Bảo tàng thiên nhiên ở Việt Nam được thành lập vào ngày 10/3/2006. Từ đó đến nay, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam không ngừng phát triển và lớn mạnh, đạt được một số kết quả đáng ghi nhận về nghiên cứu khoa học và đào tạo, trưng bày, chế tác vật mẫu, truyền thông và giáo dục cộng đồng, sau 18 năm thành lập, Bảo tàng hiện là điểm đến hấp dẫn đối với khách thăm quan trong nước và quốc tế. Đó là sự nỗ lực, đoàn kết, đồng lòng của Lãnh đạo và tập thể cán bộ bảo tàng, trong đó, giai đoạn 2018-2024 là giai đoạn Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam gặt hái được nhiều thành công.

2. KẾT QUẢ THỰC HIỆN CÁC HOẠT ĐỘNG VỀ BẢO TÀNG VÀ HOẠT ĐỘNG VỀ KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

2.1. Quản lý Bộ sưu tập mẫu vật quốc gia về thiên nhiên Việt Nam

Dự án "Xây dựng bộ sưu tập mẫu vật Quốc gia về thiên nhiên Việt Nam" đã được triển khai từ năm 2012. Trong giai đoạn 2019-2024, 20 dự án thành phần đã được thực hiện, tổng số mẫu vật thu thập được từ các dự án (12/2020) khoảng 60.000 mẫu vật thuộc khối sinh học và khoa học trái đất cùng với cơ sở dữ liệu phục vụ cho công tác nghiên cứu và trưng bày. Các mẫu vật đều được bảo quản theo đúng quy định, công tác kiểm tra việc bảo quản mẫu vật được Ban chủ nhiệm dự án thực hiện định kỳ hàng năm. Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam hiện có phòng chuyên quản lý bộ sưu tập mẫu vật, các mẫu vật sau khi được bàn giao đều được nhập mã số mẫu vật của Bảo tàng để quản lý, công tác bảo quản, kiểm tra, xử lý mẫu vật được các cán bộ chuyên môn thực hiện định kỳ trong năm theo Quy chế Quản lý Bộ sưu tập mẫu vật trong Bảo tàng.

Một số mẫu vật đặc trưng, tiêu biểu cho thiên nhiên Việt Nam được Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam chế tác và trưng bày tại phòng Tiến hóa sinh giới phục vụ phổ biến kiến thức, giáo dục, nghiên cứu khoa học, tham quan, giảng dạy như hổ, gấu ngựa, rùa Hoàn Kiếm, xương rắn,...

2.2. Chế tác mẫu vật phục vụ trưng bày

Mẫu vật là linh hồn của Bảo tàng, công tác chế tác mẫu đóng vai trò quan trọng đối với mỗi bảo tàng, là một trong các yếu tố quyết định thành công trong hoạt động bảo tàng.

Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam hiện lưu trữ khoảng 105.878 mẫu vật động vật, thực vật, địa chất, cổ sinh, thổ nhưỡng các loại. Trong những năm qua, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam đã chế tác được nhiều tiêu bản động vật, côn trùng, thực vật, mẫu da động vật nhồi, mẫu xương, mẫu cổ sinh, mẫu đá, mẫu đất nguyên khối,... phục vụ công tác trưng bày tại phòng trưng bày tiến hóa sinh giới, đáp ứng đủ lượng mẫu cần trưng bày tại Bảo tàng. Đặc biệt, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam hiện đã làm chủ công nghệ chế tác bằng phương pháp nhựa hóa mẫu vật, đây là một trong các phương pháp hiện đại nhất trên thế giới hiện nay. Năm 2018,

Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam đã chế tác thành công mẫu rùa Hồ Gươm bằng phương pháp nhựa hóa, mẫu sau khi chế tác được các chuyên gia, các nhà khoa học trong nước và quốc tế đánh giá cao về tính thẩm mỹ và khoa học. Có thể nói, chế tác vật mẫu của Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam hiện nay đã sánh tầm cỡ quốc tế, bởi các chuyên gia chế tác của Bảo tàng thường xuyên được học tập, trao đổi công nghệ chế tác với các chuyên gia chế tác nổi tiếng của quốc tế như chuyên gia chế tác thuộc Bảo tàng Lịch sử tự nhiên Berlin, Bảo tàng Lịch sử tự nhiên Erfurt, CHLB Đức; Viện Động vật Saint Petersburg, Liên bang Nga,...

2.3. Kết quả thực hiện các đề tài, dự án, nhiệm vụ khoa học và công nghệ

Trong 7 năm qua, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam đã hoàn thành kế hoạch được giao. Các đề tài, dự án hoàn thành đúng thời hạn, có nhiều công trình công bố trên các tạp chí trong và ngoài nước có uy tín và sách chuyên khảo. Bảo tàng TNVN luôn đứng tốp 10 trong Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về tỷ lệ bài báo tính theo đầu người, cụ thể như sau:

Trong 7 năm (2018-2024), Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam được giao thực hiện khoảng 321 đề tài các cấp (từ đề tài cấp cơ sở đến đề tài cấp Nhà nước). Kết quả của các đề tài, dự án, Bảo tàng TNVN đã công bố được 645 công trình trên các tạp chí trong và ngoài nước và sách chuyên khảo (trong đó có 414 bài báo quốc tế thuộc danh sách SCIE/Scopus/Scimago). Xuất bản 21 sách chuyên khảo và phát hiện 106 loài mới cho khoa học, 01 giải pháp hữu ích, 01 bằng độc quyền sáng chế, 01 bằng sở hữu trí tuệ.

Đặc biệt, giai đoạn 2018-2020, Bảo tàng TNVN đã thực hiện đề tài "Nghiên cứu giá trị di sản hang động, đề xuất xây dựng bảo tàng bảo tồn tại chỗ ở Tây Nguyên; lấy thí dụ hang động núi lửa ở Krông Nô, tỉnh Đắk Nông", mã số TN17/T06 thuộc Chương trình Tây Nguyên giai đoạn 2016-2020, kết quả của đề tài có tính ứng dụng thực tế và đã gây "chấn động" giới khoa học trong nước và quốc tế, đề tài đã nghiệm thu cấp Nhà nước được đánh giá xuất sắc. Phát hiện di tích khảo cổ tiền sử hỗn hợp (di tích cư trú + di tích xưởng + di tích mộ táng) ở hang C6.1 Krông Nô (Đắk Nông), đặc biệt là việc phát hiện "di cốt người tiền sử trong hang động núi lửa Krông Nô, Đăk Nông" đã được Bộ Khoa học và Công nghệ bình chọn là "Một trong 6 sự kiện KHCN tiêu biểu năm 2018 của Việt Nam"; và CLB Nhà báo KH&CN VN, Hội Nhà báo Việt Nam bình chọn là "Một trong 10 sự kiện khoa học nổi bật năm 2018 của Việt Nam". Một phần các kết quả nghiên cứu và phát hiện mới của đề tài đã được tích hợp vào hồ sơ và là một trong những kết quả khoa học đặc biệt quan trọng trong nội dung Hồ sơ CVĐC Đắk Nông, góp phần quyết định cho việc UNESCO công nhận danh hiệu CVĐC Toàn cầu cho CVĐC Đắk Nông vào ngày 07/7/2020. Đây là một trong những điểm tham quan thú vị mới về một vùng đất Tây Nguyên huyền thoại, nơi lưu giữ những giá trị lịch sử, văn hóa tinh thần vô giá của Việt Nam. Phát hiện nhiều loài sinh vật có thể mới cho khoa học và đặc hữu cho hang động núi lửa ở Krông Nô, Đắk Nông, trong số đó đã công bố quốc tế phát hiện loài bọ cạp mới lần đầu tiên được phát hiện trong hang động núi lửa trên thế giới; Lần đầu tiên ở Việt Nam, đã tách chiết thành công DNA từ xương động vật cổ, mở ra một hướng nghiên cứu mới phục vụ công tác bảo tồn bảo tàng, đồng thời mở rộng quan hệ hợp tác quốc tế trong nghiên cứu chuyên môn sâu về DNA từ xương động vật cổ và người tiền sử; Xác định được các nguyên nhân bảo tồn rất tốt di tích hữu cơ (di tích động vật cổ, di cốt người tiền sử) trong hang động núi lửa trên cơ sở nghiên cứu tổng thể về môi trường địa - hoá - sinh trong tầng văn hoá hang C6.1; Phát hiện di sản hỗn hợp: di tích cư trú tiền sử thời Đá mới trên miệng núi lửa Hố Tre ở thôn Hòa Tây, xã Ea Bông, huyện Krông Ana, tỉnh Đắk Lắk, đóng vai trò đặc biệt quan trọng trong việc nghiên cứu tính liên tục/dòng chảy lịch sử giai đoạn Đá mới ở lưu vực sông Sêrêpốk ở Nam Tây Nguyên; Phát hiện có hệ thống hàng loạt di tích thời Đá cũ dọc đới Sông Ba, làm cơ sở cho việc nghiên cứu phát hiện các nền văn hóa cổ đại - văn hoá Đá cũ được đề xuất tên gọi là Văn hóa Sông Ba ở Tây Nguyên, góp phần quy hoạch xây dựng bảo tàng bảo tồn tại chỗ di sản hỗn hợp ở các tỉnh có liên quan; Phát hiện này đã được

các chuyên gia khảo cổ hàng đầu của Việt Nam và Liên bang Nga ghi nhận, là tiền đề để xây dựng một đề án lớn "Thiên nhiên và con người kỷ Đệ tứ ở Đông Dương, lấy ví dụ khu vực miền núi của Việt Nam".

Giai đoạn 2018-2019, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam đã hoàn thiện chế tác mẫu rùa Hồ Gươm bằng phương pháp nhựa hóa, một phương pháp hiện đại nhất trên thế giới hiện nay. Đây là mẫu vật lớn gắn với đời sống tâm linh của người Hà Nội, nên các chuyên gia phải thực hiện rất tỉ mỉ. Phương pháp nhựa hóa giúp mẫu vật giữ được nguyên trạng, sát thực nhất với mẫu sống, không mùi và độ bền cao. Tiêu bản rùa Hồ Gươm được Hội đồng nghiệm thu đánh giá xuất sắc. Mẫu rùa Hồ Gươm đã được bàn giao cho thành phố Hà Nội để trưng bày tại đền Ngọc Sơn và 01 bản copy đã được trưng bày tại Phòng Trưng bày Tiến hóa sinh giới được các chuyên gia và khách tham quan đánh giá cao. Ngoài ra, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam tiếp tục áp dụng phương pháp nhựa hóa để chế tác các mẫu động vật như: rùa, vích, tê tê, kỳ đà,...

Giai đoạn 2018-2019, Bảo tàng TNVN đã hoàn thiện thiết kế trưng bày, thu thập mẫu vật và hoàn thiện trưng bày "Phòng trưng bày về thiên nhiên" của Bảo tàng Thiên nhiên Công viên địa chất toàn cầu Cao nguyên đá Đồng Văn, Hà Giang, thuộc Đề tài "Nghiên cứu xây dựng Bảo tàng Thiên nhiên Công viên địa chất toàn cầu Cao nguyên đá Đồng Văn, Hà Giang", đề tài được tổ chức UNESCO và tỉnh Hà Giang đánh giá cao, phòng trưng bày về thiên nhiên sống động, phòng trưng bày là tiêu chí đánh giá Công viên đá Đồng Văn, góp phần quảng bá hình ảnh về thiên nhiên, văn hóa và con người Hà Giang. Đề tài đã được nghiệm thu loại xuất sắc.

2.4. Kết quả thực hiện các dự án xây dựng cơ bản, tăng cường trang thiết bị, dự án nâng cấp, sửa chữa cơ sở cho bảo quản, chế tác mẫu vật và phòng thí nghiệm

1. Dự án "Tăng cường tiềm lực nghiên cứu, phân tích và giám định trong lĩnh vực sinh học và khoa học trái đất" đã kết thúc trong năm 2019, các thiết bị đã được đưa vào sử dụng. Hiện tại, các trang thiết bị đang phục vụ nghiên cứu của các đề tài, dự án góp phần mang lại hiệu quả cao trong nghiên cứu khoa học và hoạt động bảo tàng.

2. Dự án "Trung tâm Bảo tồn tài nguyên thiên nhiên Việt Nam và cứu hộ động vật, thực vật tại huyện Phong Điền, thuộc Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam" đang cố gắng triển khai theo đúng tiến độ kinh phí được cấp và đang chuẩn bị triển khai các gói thầu tiếp theo của dự án. Các hạng mục đã hoàn thành đúng tiến độ của dự án vào năm 2020 mặc dù do đại dịch Covid-19 làm ảnh hưởng rất nhiều đến tiến độ của dự án.

3. Dự án "Giao thông kết nối hạ tầng kỹ thuật của Trung tâm Bảo tồn tài nguyên thiên nhiên Việt Nam và cứu hộ động vật, thực vật thuộc Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam" đã triển khai đúng tiến độ và kinh phí được cấp, dự án đã kết thúc vào năm 2019. Dự án mở rộng Trung tâm Phong Điền giai đoạn 2 hoàn thiện thủ tục để phê duyệt dự án.

4. Dự án "Xây dựng Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam" tại khu Đô thị sinh thái Quốc Oai đang được tiến hành các thủ tục theo quy định. Ngày 06/5/2020, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam đã được Chủ tịch UBND thành phố Hà Nội ban hành Quyết định số 1836/QĐ-UBND về việc phê duyệt Nhiệm vụ quy hoạch chi tiết Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam tỷ lệ 1/500 tại xã Liệp Tuyết, Ngọc Liệp, Ngọc Mỹ, huyện Quốc Oai, thành phố Hà Nội. UBND thành phố Hà Nội phê duyệt đồ án quy hoạch chi tiết Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, tỷ lệ 1/500 tại các xã Liệp Tuyết, Ngọc Mỹ và Ngọc Liệp, huyện Quốc Oai, thành phố Hà Nội (Công văn số 3990/QĐ-UBND ngày 23/8/2021 của UBND thành phố Hà Nội).

Năm 2023, Chủ tịch Viện Hàn lâm KHCNVN phê duyệt dự án Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam (Quyết định số 2888/QĐ-VHL ngày 28/12/2023).

Hiện nay, Bảo tàng đang thực hiện công tác đền bù, giải phóng mặt bằng, đã nhận được 7 ha đất bàn giao từ UBND, huyện Quốc Oai, Bảo tàng đã cắm mốc giới định vị khu đất phục

vụ công tác đền bù, giải phóng mặt bằng (Công văn số 994/STNMT-ĐĐBĐVT ngày 05/02/2024 định vị mốc khu đất phục vụ đền bù, giải phóng mặt bằng dự án "Chuẩn bị mặt bằng, xây dựng cơ sở hạ tầng Bảo tàng giai đoạn 2021-2025 tại huyện Quốc Oai, thành phố Hà Nội).

2.5. Kết quả hoạt động hợp tác quốc tế của Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam

2.5.1. Hợp tác quốc tế về nghiên cứu khoa học và thu thập mẫu vật

Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam đã xác định công tác hợp tác quốc tế về nghiên cứu khoa học, chế tác vật mẫu, giáo dục, đào tạo, bồi dưỡng nguồn nhân lực khoa học và công nghệ trong thời kỳ hội nhập đóng vai trò quan trọng đối với sự nghiệp xây dựng và phát triển của Bảo tàng, chú trọng đến công tác hợp tác quốc tế về nghiên cứu khoa học, chế tác vật mẫu, giáo dục, đào tạo, bồi dưỡng nguồn nhân lực khoa học và công nghệ: tăng cường hợp tác, mở rộng quan hệ, hội nhập nhằm phát huy tiềm năng, nội lực, khai thác các lợi thế, các thành tựu của thế giới để phát triển Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam. Trong thời gian qua, Hợp tác quốc tế đã mang lại nhiều cơ hội phát triển cho Bảo tàng. Trong thời gian tới, bên cạnh những thời cơ mới, cũng không ít những khó khăn, thách thức và cần có những bước đi phù hợp thúc đẩy công tác này.

Theo đó, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam đã đạt được nhiều thành tích trong nghiên cứu khoa học, giáo dục, đào tạo, bồi dưỡng nguồn nhân lực khoa học và công nghệ, để đạt được những thành tích đó, không thể không kể đến vai trò của hợp tác quốc tế.

Thông qua việc ký kết các Biên bản Ghi nhớ (MoU) và Thỏa thuận hợp tác (MoA) với các đối tác nước ngoài, các hoạt động hợp tác quốc tế về nghiên cứu khoa học và đào tạo, chế tác vật mẫu và thiết kế trưng bày, sưu tầm, xây dựng và quản lý, khai thác bộ sưu tập mẫu vật của Bảo tàng ngày càng sôi nổi và đạt được nhiều kết quả đáng ghi nhận. Tính đến tháng 12/2024, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam đã ký 60 Biên bản Ghi nhớ và Thoả thuận hợp tác (32 MoU đang có hiệu lực) với các bảo tàng lịch sử tự nhiên, các viện nghiên cứu, các trường đại học, các tổ chức quốc tế thuộc 22 quốc gia trên thế giới về hợp tác nghiên cứu khoa học, đào tạo, chế tác vật mẫu và thiết kế trưng bày, công tác truyền thông và giáo dục cộng đồng. Thông qua các hoạt động như ký kết hợp tác, tổ chức các đoàn vào, các đoàn ra, trao đổi chuyên gia, phối hợp thực hiện các đề tài, dự án chung. Trong những năm qua, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam đã thực hiện được nhiều đề tài, dự án liên quan đến hợp tác nghiên cứu và đào tạo, công tác chế tác vật mẫu và thiết kế trưng bày, truyền thông và giáo dục cộng đồng.

Trong 7 năm qua, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam đã tiến hành đón tổng số 138 đoàn vào, gồm 502 chuyên gia nghiên cứu dày dạn kinh nghiệm đến hợp tác nghiên cứu với cán bộ của Bảo tàng. Sau các đợt hợp tác nghiên cứu này, Bảo tàng đã có thêm được nhiều mẫu vật phục vụ công tác nghiên cứu và trưng bày. Kết quả mẫu vật thu được từ các hoạt động hợp tác quốc tế trong 06 năm khoảng trên 10.000 mẫu động vật và thực vật phục vụ công tác nghiên cứu, trưng bày. Các mẫu vật này, sau khi được phân loại, phân tích, đánh giá, và công bố sẽ được chia cho hai bên theo thỏa thuận và quy định. Kết quả có trên 100 bài báo quốc tế đã được công bố trong 6 năm gần đây dựa trên hoạt động hợp tác quốc tế. Tổ chức 62 đoàn ra nước ngoài trao đổi khoa học, học tập, nghiên cứu.

2.5.2. Hợp tác quốc tế về đào tạo nhân lực

Giai đoạn 2018-2020, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam hợp tác với Bảo tàng Thiên nhiên Berlin thực hiện dự án "Tiếp cận mới khám phá đa dạng sinh học ở Việt Nam-VIETBIO", đây là dự án đào tạo ngắn hạn cho các cán bộ thuộc Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, các bảo tàng thuộc hệ thống Bảo tàng thiên nhiên ở Việt Nam, các viện nghiên cứu thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Dự án này kéo dài 03 năm (2018-2020). Mỗi năm Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam cử 03 cán bộ và 06 cán bộ thuộc các viện

nghiên cứu thuộc Viện Hàn lâm KHCNVN sang Bảo tàng Thiên nhiên Berlin đào tạo 03 tháng. Mọi kinh phí đi lại, ăn, ở, phí đào tạo cán bộ đều do phía Đức đài thọ. Sau khi dự án kết thúc, ngoài việc đào tạo các cán bộ nghiên cứu sử dụng thành thạo các trang thiết bị nghiên cứu, Bảo tàng Thiên nhiên CHLB Đức còn tài trợ các trang thiết bị hiện đại và rất cần thiết trong chuyên môn cho Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam để phục vụ công tác nghiên cứu và bảo tồn đa dạng sinh học.

Trong năm 2019, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam thông qua hợp tác với Trường Đại học Kumamoto, Nhật Bản thực hiện Dự án thành phần "Xây dựng bộ sưu tập mẫu cổ sinh Việt Nam", đã cử một số cán bộ trẻ sang Trường Đại học Kumamoto, Nhật Bản để đào tạo ngắn hạn trong thời gian từ 02 tuần đến 01 tháng, mọi chi phí đều do phía Nhật Bản đài thọ. Khoá thực tập này giúp đội ngũ các cán bộ đang thực hiện DATP nói riêng và các cán bộ trẻ của Bảo tàng nói chung học hỏi và nâng cao trình độ chuyên môn.

Giai đoạn 2022-2023, Bảo tàng phối hợp với Đại sứ quán Pháp thực hiện tổ chức thành công lớp tập huấn ***"Phương pháp truyền đạt nội dung khoa học***" thuộc Dự án FSPS (Chia sẻ và gìn giữ di sản Việt Nam) do Đại sứ quán Pháp tại Việt Nam chủ trì. Lớp tập huấn diễn ra tại Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam từ ngày 31/10-02/11/2022, hợp tác với Viện Pháp, Đại sứ quán Pháp do các chuyên gia của trung tâm Universcience, Cộng hòa Pháp giảng dạy. Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam cử 03 cán bộ tham gia lớp học này. Đồng thời, cử 02 cán bộ sang Pháp để tập huấn vào tháng ngày 13-19/11/2022 trong khuôn khổ của dự án FSPS.

+ Thực hiện dự án hợp tác quốc tế với Viện Độc lập các Vấn đề Môi trường (UfU, Berlin), CHLB Đức để thực hiện Pha 2 của dự án GreenCityLab Huế "Tăng cường khả năng chống chịu trước khí hậu tại khu vực đô thị miền Trung Việt Nam thông qua các giải pháp dựa vào thiên nhiên để thích ứng nhiệt và cải thiện chất lượng không khí". Năm 2023, đã ký Phụ lục Hợp đồng thứ hai kéo dài thời gian từ 2023-2025 để thực hiện các gói công việc còn lại của Pha 2 có giá trị 38.922 EUR.

2.5.3. Hợp tác quốc tế về chế tác mẫu vật

Năm 2016, khi rùa Hồ Gươm bị chết, UBND thành phố Hà Nội đã lựa chọn Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam là đơn vị thực hiện chế tác mẫu rùa Hồ Gươm. Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam xác định được tầm quan trọng của hợp tác quốc tế trong việc chế tác mẫu rùa đặc biệt quan trọng này. Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam đã mời 02 chuyên gia chế tác mẫu rùa nổi tiếng trên thế giới thuộc Bảo tàng Thiên nhiên Berlin và Bảo tàng Eurfurt, CHLB Đức đến Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam phối hợp cùng cán bộ của Bảo tàng để chế tác mẫu rùa Hồ Gươm từ 2017-2019.

Các nhà khoa học đã áp dụng phương pháp hiện đại nhất trên thế giới hiện nay đó là phương pháp nhựa hoá (thay thế mô tế bào bằng dung dịch hoá chất chuyên dụng), các chuyên gia nước ngoài và các cán bộ chế tác của Bảo tàng đã chế tác thành công mẫu rùa Hồ Gươm.

2.6. Hoạt động đặc thù của Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam

2.6.1. Công tác trưng bày, truyền thông và giáo dục cộng đồng

Phòng Trưng bày "Tiến hoá sinh giới" tính từ 01/12/2019-30/11/2024 đã đón tiếp hơn 270.000 lượt khách tham quan. Tỷ lệ khách tham quan hằng năm đều tăng lên, tuy nhiên riêng năm 2020 số lượng khách giảm nguyên nhân là Phòng Trưng bày đóng cửa 06 tháng do dịch Covid-19, sau khi dịch Covid-19 giảm, thì số lượng khách tham quan về cơ bản lại đạt mức độ như trước đây. Trong đó, tỷ lệ học sinh và sinh viên (bao gồm tiểu học, THCS, THPT và đại học) chiếm 40,39%, tỷ lệ đối tượng là mầm non chiếm 38,96% còn lại là đối tượng khác chiếm 20,65%. Trong 7 năm qua, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam đã tổ chức, hướng dẫn cho

học sinh tham quan và học tập tại Phòng Trưng bày kết hợp với sự tham gia của chuyên gia và cán bộ nghiên cứu của Bảo tàng.

Tổ chức hoạt động trải nghiệm: Hàng năm xây dựng và tổ chức hướng dẫn học sinh từ cấp tiểu học đến trung học phổ thông các hoạt động giáo dục trải nghiệm có sự kết hợp khéo léo với các nội dung trưng bày tại Bảo tàng để tăng sự hứng thú cho trẻ; tăng cường kỹ năng, hiểu biết cho trẻ về thế giới tự nhiên, đồng thời tăng tính sáng tạo trong học tập, hướng tới phát triển toàn diện và phát huy đầy đủ tiềm năng bản thân. Các hoạt động trải nghiệm bao gồm:

Hoạt động "Làm tiêu bản mẫu Côn trùng": Trẻ em được tự tay làm tiêu bản mẫu bướm với sự hướng dẫn của cán bộ Bảo tàng. Mục đích của hoạt động là giới thiệu với các em học sinh, những người yêu thiên nhiên về sự đa dạng của côn trùng nhằm nâng cao hiểu biết phần nào về thế giới côn trùng vô cùng phong phú và đa dạng. Tham gia làm tiêu bản mẫu cũng giúp các em tăng thêm kỹ năng thực hành, khéo léo trong công việc;

Hoạt động "Làm mô phỏng Hóa thạch": Trẻ em được hướng dẫn để tự tay làm hóa thạch mô phỏng theo bản gốc bằng thạch cao. Hoạt động này giúp các em có kiến thức và hiểu biết về Hóa thạch: Hóa thạch là gì? Hóa thạch được hình thành như thế nào?,...;

Hoạt động "Làm mặt nạ giấy Động vật": Nhằm nâng cao khả năng của trẻ trong việc nhận biết được các con vật thông qua các hình mẫu mặt nạ và học được kiến thức về các đặc điểm cơ bản của các con vật đó. Ngoài ra, các em được tự do sáng tạo, phát triển khả năng hội họa bằng việc chọn màu sắc để tô màu cho mặt nạ động vật;

Hoạt động "Làm huy hiệu động vật": Trẻ em được lựa chọn hình ảnh, màu sắc, kích cỡ huy hiệu theo sở thích để tạo ra sản phẩm mang cá tính của riêng mình. Hoạt động này cũng nhằm nâng cao hiểu biết của trẻ về thế giới các loài động vật và ý thức trong việc bảo vệ các loài động vật nói riêng và thế giới tự nhiên nói chung;

Hoạt động "Làm Robot Khủng Long": Trẻ em được hướng dẫn tự tay làm Robot từ các nguyên liệu tái chế như giấy, bút,... Hoạt động này giúp nâng cao nhận thức của trẻ về việc tái chế các rác thải, vật liệu thải để làm nguyên liệu sản xuất ra các sản phẩm mới có ích, nhằm giảm việc tiêu thụ những vật liệu thô mới, giảm sử dụng năng lượng, giảm ô nhiễm không khí (do đốt rác) và ô nhiễm nước (do chôn lấp) để bảo vệ môi trường nói chung và thế giới tự nhiên nói riêng.

Thường xuyên truyền thông về các chương trình hoạt động giáo dục và trải nghiệm tại Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam nhằm thu hút khách tham quan trên trang website của Bảo tàng cũng như mạng xã hội Facebook,... Ngoài ra, Phòng Trưng bày còn tổ chức học tập theo các chuyên đề cho học sinh tiểu học vào dịp hè, tổ chức hoạt động trải nghiệm: hướng dẫn học sinh từ tiểu học đến trung học phổ thông làm tiêu bản mẫu côn trùng và tiêu bản mẫu thực vật. Phối hợp với Học viện Khám phá tổ chức các hoạt động giáo dục, nghiên cứu và tìm hiểu khoa học và trải nghiệm tại Bảo tàng.

Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam được công nhận là một trong số 100 điểm nên tham quan do Sở Du lịch Hà Nội giới thiệu và tại vị trí cổng 18 Hoàng Quốc Việt - đây là 1 bến của tuyến xe buýt số 68 (tuyến đường Nội Bài, Hà Đông). Chứng tỏ công tác truyền thông, quảng bá giới thiệu Bảo tàng trong những năm qua đã không ngừng phát triển.

2.6.2. Công tác thu thập và chế tác mẫu vật

Công tác thu thập và chế tác mẫu vật luôn được thúc đẩy, trong 7 năm qua, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam đã thực hiện trên 229 đợt tiếp nhận mẫu vật từ các cơ quan chức năng, gồm 1.173 mẫu động vật, hàng chục mẫu ngâm được thu thập để xử lý, chế tác phục vụ nghiên cứu và trưng bày.

2.6.3. Công tác bảo tồn

Công tác bảo tồn được gắn liền với việc thực hiện các nhiệm vụ điều tra cơ bản, nghiên cứu khoa học và đào tạo cán bộ khoa học trong lĩnh vực bảo tồn thiên nhiên, trong thời gian qua, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam đã thực hiện hàng chục đề tài, dự án liên quan đến điều tra cơ bản, các chuyên gia, các nhà khoa học của Bảo tàng luôn thúc đẩy công tác thu thập mẫu vật và tham gia trưng bày, giới thiệu, quảng bá các di sản thiên nhiên.

Trung tâm Bảo tồn Tài nguyên thiên nhiên Việt Nam và Cứu hộ động vật, tiếp nhận tổng số 433 cá thể động vật các loại, đồng thời Trung tâm đang tiếp tục trồng cây với hơn 3.000 cây của hơn 20 loài để phục vụ công tác bảo tồn.

3. KẾT LUẬN

Trong 07 năm qua (2018-2024) Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam đã thực hiện tốt chức năng và nhiệm vụ được giao, thể hiện được vai trò của một Bảo tàng đầu hệ trong hệ thống Bảo tàng Thiên nhiên ở Việt Nam và đã từng bước khẳng định được vị trí của mình trong Hệ thống Bảo tàng Việt Nam. Hướng tương lai, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam tiếp tục phát huy những kết quả này, góp phần lan tỏa giá trị thiên nhiên đến cộng đồng.

Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam mong muốn nhận được sự ủng hộ nhiều hơn nữa từ Lãnh đạo Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cũng như sự phối hợp của các Viện chuyên ngành trong Viện Hàn lâm trong công tác trưng bày, triển lãm; thu thập, bảo quản, chế tác mẫu vật; và nghiên cứu khoa học

Liên hệ: **Phan Kế Long**
Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: pklong@vnmn.vast.vn.

PREPARATION OF MICROCAPSULES AND NANOEMULSION OF GREEN INSECTICIDES TO CONTROL STORED GRAIN PESTS

Do Van Cong[1,2], Pham Thi Thu Huong[3], Vo Thi Kieu Anh[1,2], Nguyen Thi Thu Trang[1,2], Akbar Satriawan[4], Arinafril[4], Do Thi Kim Loan[3], Vu Thi Phuong Binh[5], Tran Dai Lam[1,2], Le Dang Quang[1,2,*]

[1]Institute for Tropical Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18, Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

[2]Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18, Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

[3]University of Economics - Technology for Industries, 456 Minh Khai, Hai Ba Trung, Hanoi, Vietnam

[4]University of Sriwijaya, Indralaya, Indonesia

[5]Plant Protection Research Institute, Vietnam Academy of Agricultural Sciences, Bac Tu Liem, Hanoi, Vietnam

Received 10 Feb 2025; Revised 20 Feb 2025; Accepted 1 Mar 2025

Abstract

The work focused on the formulation of microcapsules and nanoemulsions containing insecticides such as emamectin benzoate and nanoemulsions containing neem oil and cinnamon oil (Neem-C oil EC) for the control of cereal pests. The prepared PLA microcapsules with and without EMB were quite uniform in size, ranging from 25 µm to 30 µm. The nanoemulsion of Neem-C oil EC was found to have a particle size distribution of 175.5 nm and 910 nm and a mean kinetic diameter of 710 nm. The stability of the emulsion system when measured by zeta potential showed a zeta value of -65 mV. Mealworms (*Tenebrio molitor*) and superworms (*Zophobas morio*) were used to test the efficacy of the resulting materials by two methods: contact method and direct spraying on the insect body. The test results showed that EMB microencapsules were more effective than abamectin at 36 and 48 hours after testing with LC_{50} of 0.87 and 0.95 mg/cm^2 respectively compared to abamectin at concentrations of 4.36 to 5.10 mg/cm^2. While, both mealworm and superworm were killed with nanoemulsion of Neem-C oil EC by mortalities of 80 and 95%, respectively. The study opens up a new direction for development with green insecticides, creating nano and micro materials with suitable properties and effectiveness in controlling stored grain pests.

Keywords: Emamectin benzoate, microcapsules, neem oil, cinnamon oil, nanoemulsion, stored grain pests.

1. INTRODUCTION

The growing global population has led to an increasing demand for food, making the agricultural sector crucial in meeting these needs. However, in Asian region, population growth has outpaced agricultural production, creating challenges in ensuring food security. One major obstacle to increased crop production is pest attacks, which significantly impact food availability. To address this, farmers commonly rely on synthetic insecticides for pest control due to their high effectiveness and affordability, especially in large-scale applications. Active ingredients like abamectin and emamectin benzoate (EMB) provide rapid action, making chemical control a practical choice in urgent situations. Besides, natural products such as neem oil, azadirachtin, pyrethroids, essential oils and other phytochemicals have been considered as greener active ingredients to develop green pesticides to use in organic agriculture and

postharvest. One of the main challenges of these active ingredients is their poor solubility in water and an advanced formulation to enhance their action in the insect body.

Advancements in technology have introduced environmentally friendly alternatives, such as nano insecticides, which enhance efficiency while reducing usage and costs. According to Ngo et al. (2017) and Pasquoto-Stigliani et al. (2017), nanoformulations improve the performance of insecticides, minimizing environmental impacts and non-target species harm.[1-3] Despite their potential, research and application of nano insecticides remain limited in countries like Vietnam, while they are more developed in nations like the United States, Australia, and Malaysia. Nanoformulations offer controlled release and adaptability to unfavorable environments, with reduced effects on beneficial insects. Given these benefits and the lack of research, further exploration into nano insecticides is essential for sustainable pest management. In addition, the activity of many pesticides, especially biological pesticides such as EMB, is greatly affected by external environmental conditions such as ultraviolet irradiations, sunlight, pH, etc., leading to reduced activity and effectiveness as used.[4,5] Therefore, along with enhancing the dispersibility, encapsulating pesticides with carrier materials such as polymers in the nano and microformulas also helps limit the decomposition of pesticides and prolong their activity, thereby increasing the effectiveness of use as well as limiting environmental pollution.[5]

The objective of this study was to prepare nano/micro formulations containing EMB coated by PLA and to prepare a nanoemulsion containing neem oil and cinnamon oil to control cereal pests such as mealworm *T. molitor* and superworm *Z. morio* in vitro bioassay. The results suggest the application direction of environmentally friendly insecticide-containing materials with suitable functions for use in cereal preservation under tropical conditions.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Microcapsules fabrication of emamectin benzoate

Main materials: High quality EMB, CAS. No. 155569-91-8, 99% purity, from Hebei Mojin Biotechnology limited company (China). Polylactic acid, a biodegradable resin (PLA) from Anhui Jin'ao Chemical Co., Ltd. (China), CAS. No. 26100-51-6. Polyvinyl alcohol (PVA) resin, GL-05, hydrolysis (mol/mol) 86.0-89.0, purity (%) ≥ 93.5 from Hennan Jinhe Industry limited company (Japan). Gelatin, Extra pure CAS No. 9000-70-8, Himedia (India). Dichloromethane (DCM), AR, Chai 500ML, Xilong, Cas 75-09-2. The raw material of neem oil (1300 ppm azadirachtin A and B) is provided by FTA International Agriculture Joint Stock Company. Lao Cai cinnamon essence is provided by Techvina Company. Absolute ethanol and deionized water, from Duc Giang Detergent and Chemicals Limited company (Vietnam). Other solvents and additives were of analytical reagent grade.

Microcapsules were fabricated by the emulsion solvent evaporation method. Polylactic acid (PLA) and the pesticide emamectin benzoate (EMB) were dissolved in dichloromethane solvent under a magnetic stirrer with the mass ratio of PLA/EMB = 2/1 to obtain the oil phase. The microemulsion system was fabricated by slowly dropping the oil phase into the water phase containing 1% of a mixture of gelatin and polyvinyl alcohol (PVA) and then being homogenized at 8000 rpm for 6 minutes. After homogenization, continue stirring the mixture for 4 hours to homogenize the mixture and evaporate the solvent. The resulting mixture was put into a centrifuge tube and centrifuged 3 times at 5800 rpm for 6 minutes to collect the sample in the solid state. The sample after centrifugation was dried by a freeze drier for 24 hours to obtain the PLA microcapsules coated with EMB.

2.2. Preparation of emulsifier concentration (EC) and nanoemulsion of neem oil and cinnamon oil

Emulsifiable concentrate (Neem-C oil EC), step (1) stirs the mixture of Neem oil (10 mL) and cinnamon essential oil (5 mL (13.17% cinnamaldehyde) mixed well in a reaction vessel to create the oil phase. Next, the surfactant phase was prepared by dissolving Tween 20 (30 mL), propylene glycol (20 mL), and ethanol (10 mL) to form a homogeneous solution. The oil phase was slowly poured into the surfactant phase and stirred at 400 rpm to achieve the initial emulsification state. Then, the mixture was treated with ultrasound for 2 hours at 30 °C.

The nanoemulsion system of Neem-C oil EC was further created by dispersing EC into water at a dilution ratio of 800 times and combining ultrasound for 15 minutes. The ultrasound process helps to reduce the oil droplet size to nano level, increasing stability and uniform dispersion. After completion, the Neem-C oil nanoemulsion system was tested to ensure no phase separation and to evaluate the oil droplet size and sample homogeneity.

2.3. Analysis and evaluation of the characteristics of the micro/nanomaterials

The samples were photographed by SEM on a JSM-6510LV device (Jeol, Japan) at the Institute for Tropical Technology. The samples were silver-coated before being captured.

Ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis) measurement: Using this method for the qualitative and quantitative determination of EMB encapsulated in the microparticles because the peak at 245 nm on the UV-Vis spectrum is characterized for EMB and the intensity of this peak is extremely sensitive to the EMB content. This measurement was performed on a Biochrom S80 (Biochrom - UK) at a wavelength range of 200-800 nm at the Institute for Tropical Technology. The solvent used for these measurements was absolute ethanol.

Dynamic light scattering measurement (DLS): Dynamic light scattering (DLS) was performed on a DLS SZ-100Z2 device (Horiba, Japan). About 0.10 g of microspheres were put into the glass beaker filled with 20 mL of distilled water under ultrasonic condition by and the mixture was sonicated at 750 W for 2 minutes using a VCX750 machine (Sonics, USA) and statically kept for 2 minutes before conducting DLS measurements. The mean diameter of microspheres was the diameter of 50% of the microspheres.

Quantification of EMB loading content (L) and EMB encapsulation efficiency (H) in microcapsules was performed by establishing a standard curve with a concentration range of 10 to 60 mg/L. The standard curve was constructed with the equation: $A = 0.071C + 0.138$ with coefficient $R^2 = 0.9988$.

EMB quantification procedure: An accurately weighed amount of 10 mg of microcapsules was completely dissolved in DCM solvent, then completely evaporated DCM in a vacuum rotary evaporator to obtain a very thin, solid film. Add exactly 10 mL of absolute ethanol to the flask and continue stirring continuously with magnetic stirring for 2 hours to EMB. Next, filter to remove solid residue, obtain the filtrate and this filtrate is used to measure UV-Vis and quantify EMB.

$$\text{Load L (\%)} = 100 \times (m_{\text{EMB in microcapsules}})/m$$

$$\text{EMB encapsulation efficiency (H)} = 100 \times m_{\text{EMB in microcapsules}}/m_{\text{initial EMB}}$$

where, m is the mass of microcapsules.

EMB release testing: A predetermined amount of microcapsules was immersed in 40 mL of absolute ethanol solution. After various interval times, 1mL of the immersion solution was withdrawn for the UV-Vis was measured to determine the amount of EMB released. Each time the solution is withdrawn, 1mL of absolute ethanol solvent is added to ensure that the

volume of the immersion mixture remains constant. Each type of sample was conducted with 3 simultaneous experiments to determine the error, the results obtained are the average of 3 experiments. Commercial EMB (uncoated) is also immersed in the same way as the control sample.

2.4. Insecticidal activity test on mealworm and superworm

Preparation of test insects *Tenebrio molitor* and *Zophobas morio:* The test insects used in this study were *Tenebrio molitor* and *Zophobas morio*. The selected test insects, both *T. molitor* and *Z. morio*, must be active and be at the same stage of development and uniform size. The life phase of *T. molitor* and *Z. morio* tested was the larval phase. Before testing, the larvae of *T. molitor* and *Z. morio* were acclimatized to adapt to changes in the surrounding conditions. So that the larvae of *T. molitor* and *Z. morio* at the time before testing are in optimal conditions and not stressed.

In the contact method for a test with EMB microcapsules, four doses of NPs of emamectin benzoate insecticide were prepared, 20 mg/400 µL, 40 mg/400 µL, 60 mg/400 µL, and 80 mg/400 µL, as well as 400 µL of distilled water as control, were applied to a 19.64 cm^2 filter paper. Abamectin was used as a positive control in the experiment with worms. The solvent was allowed to evaporate by rotating the container so that the insecticide was evenly distributed over the entire surface of the filter paper. Observation of mortality of the test insects was carried out every 12 hours once as many as 4 times.

A lethal dose of 50% or LD_{50} is a parameter used in this study to determine the dose of abamectin and emamectin needed to cause death in fifty percent of the test insect population. Mortality observations to obtain a lethal dose of 50% were made by recording insect mortality in each treatment applied. The relationship between test insect mortality and dose was analyzed using statistical methods in the form of probit regression.

Insecticidal activity Neem-C oil EC that contains neem oil and cinnamon oil was tested by spraying at a rate of 800-fold dilution against mealworm *T. molitor* and superworm *Z. morio* in *in vitro* bioassay. After the mealworms and superworms were raised in plastic dishes, the nanoemulsion was sprayed on them at 800-fold dilution. Negative control was treated with water only. Positive control was treated with Abamectin at a concentration of 500 ppm. Mortality (M; %) was calculated according to the formula ABBOTT.[2, 6]

$$M\% = \frac{C_a - T_a}{C_a} \times 100\%$$

where: C_a is the number of mealworms and superworms alive in the negative control after treatment; T_a is the number of mealworms and superworms alive in the experiment treated with test materials.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Characteristics and morphology of microcapsules containing emamectin benzoate

PLA microparticles with and without loading EMB were successfully fabricated using a mixture of gelatin and PVA surfactants at a concentration of 1%. They were the microspheres with fairly uniform sizes, from 25 µm to 30 µm (Figure 1). The PLA microparticles had a smooth surface (Figure 1b), while PLA microparticles loading EMB had a rougher surface due to the presence of EMB nanoparticles adhered to the surface (Figure 1d). It indicated that the EMB was not only encapsulated inside but also attached outside the surface of the microparticles. The presence of EMB in the microparticles was confirmed by UV-VIS spectroscopy with the characteristic peak of EMB appearing at 245 nm as shown in Figure 2. The EMB content in the microparticles was quantified by UV-Vis measurement with standard

curves with the EMB loading content (L) was 28.4% and an encapsulation efficiency (H) reached 85%. The test of the EMB release process showed that free EMB only needed 18 hours to completely release, while EMB encapsulated in microparticles needed 24 hours to release 51% and another 264 hours to release the remaining EMB. This indicated that the EMB-encapsulated microparticles were quite effective, helping to release EMB more slowly and controlled. In the early stage, the release of EMB attached to the surface or located near the surface of the microparticles was more favorable, so the EMB released faster with the larger amount. In the later stage, the EMB was located deeper inside the microparticles, so the solvent had difficulty diffusing in and the release process occurred more slowly.

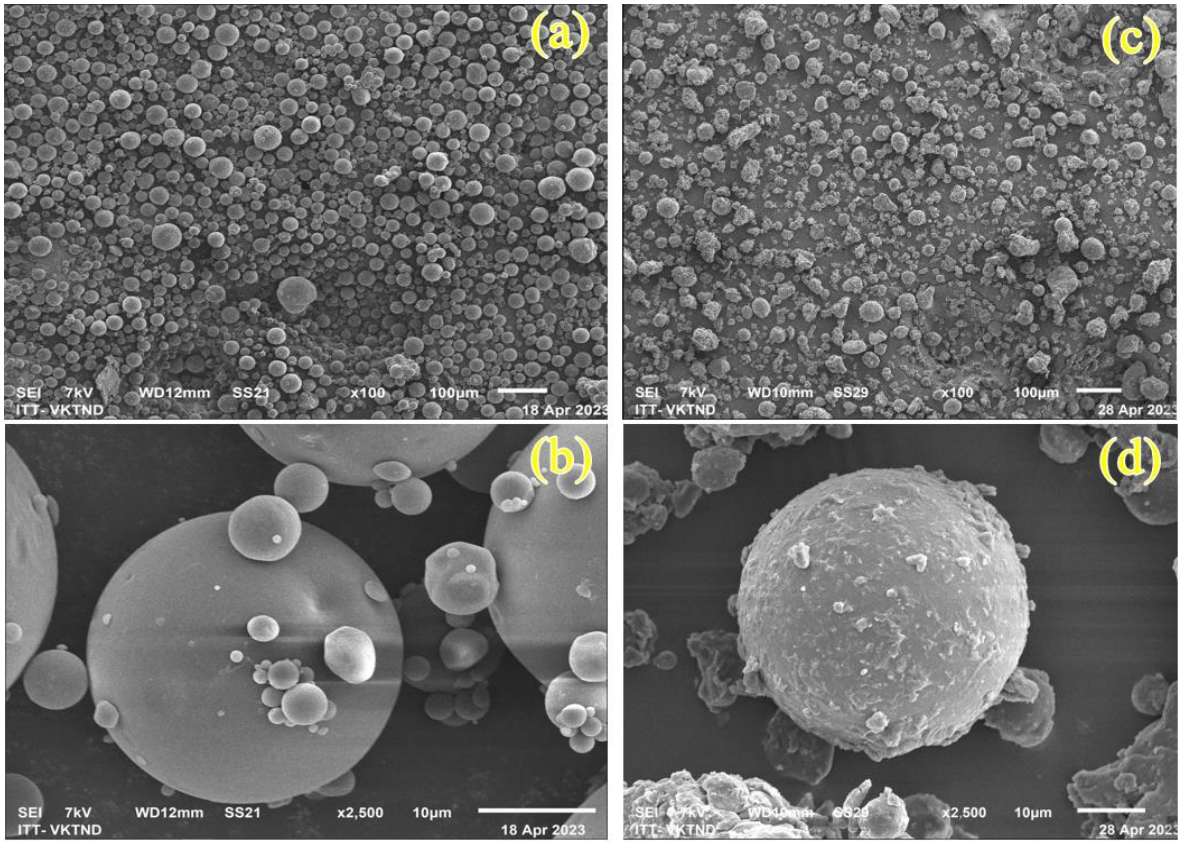


Figure 1. SEM images of PLA microcapsules without (a, b) and containing EMB (c, d) at 100x (a and c) and 2500x (b and d) magnifications

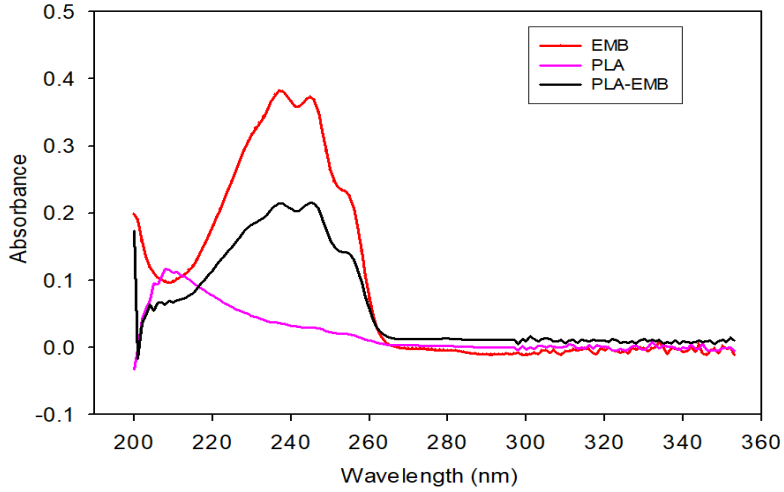


Figure 2. UV-Vis spectra of EMB and EMB-coated and uncoated PLA microcapsules

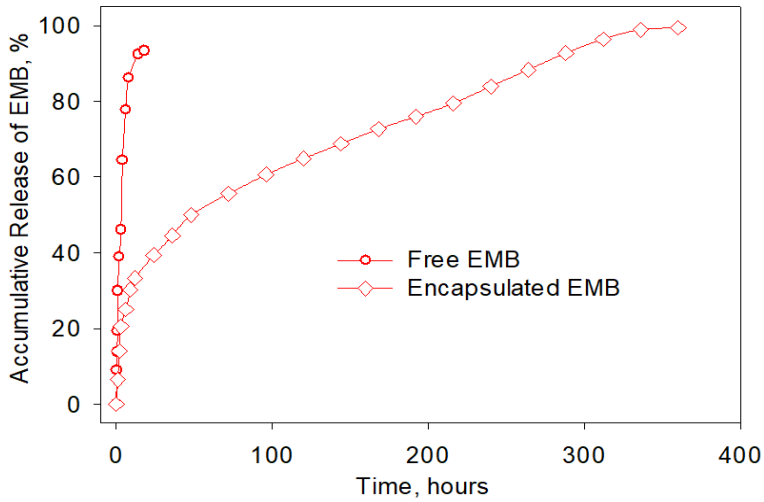


Figure 3. The cumulative release of free and encapsulated EMB in the absolute ethanol

3.2. Characteristics of Neem-C oil nanoemulsion

Neem oil contains at least 100 bioactive compounds. Among them, the major constituents are triterpenes known as limonoids, the most important of which is azadirachtin (Figure 6a), which appears to be responsible for 90% of the activity against most pests. Pasquoto-Stigliani et al. (2017) prepared poly(ε-caprolactone) nanocapsules containing neem oil by the emulsion/solvent evaporation method.[1] The nanocapsules showed a size distribution of nanoparticles with an average size ranging from 410 to 500 nm, with a polydispersity index below 0.2 and were stable for 120 days. The poly(ε-caprolactone) nanocapsules containing neem oil showed activity with MIC 0.5-1.5 mg/mL against *Escherichia coli*, *Candida albicans*.[1] The mean hydrodynamic diameters of neem oil-loaded zein nanoparticles dispersed in water were measured using DLS and nanoparticle tracking analysis, yielding results of 288±6 nm and 198±16 nm, respectively.[3]

In our study, Neem-C oil EC material was formed into nanoemulsion by dispersing Neem-C oil EC material into the water phase with a dilution ratio of 2000 times and determining the average kinetic diameter by the DLS method. The measurement results showed that the emulsion contained 2 main peaks of nanoparticles with sizes of 175.5 nm and 910 nm and the average kinetic diameter of the system was 710 nm (Figure 4). In addition, the polydispersity index value of 0.837 also showed that the system had an inconsistent size distribution of particle sizes with quite wide differences. The stability of the emulsion system was indicated by zeta potential. The zeta value of -65 mV showed that the nanoemulsion system was stable and suitable for spraying when conducting experiments with stored grain pests.

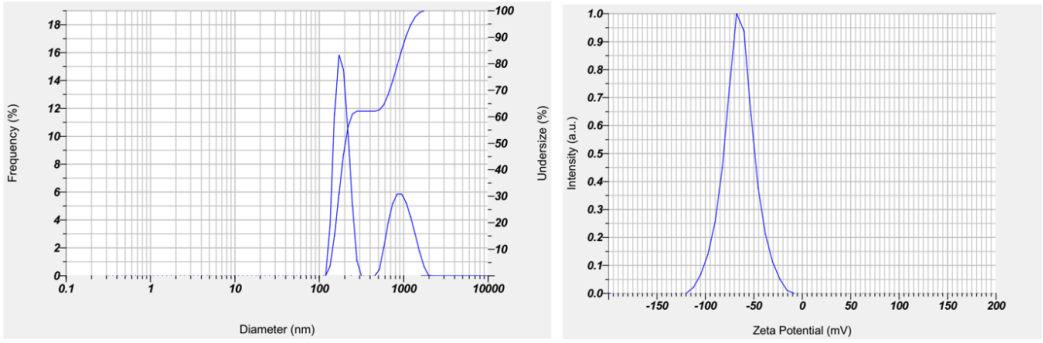


Figure 4. DLS measurement of hydrodynamic diameters of the droplets of Neem-C oil nanoemulsion and zeta potential of nanoemulsion

3.3. Efficacy of EMB microcapsules in killing mealworms and superworms

As shown in Figure 5 and Table 1, the efficacy of EMB encapsules against mealworm (*Tenebrio molitor*) and superworm (*Zophobas morio*) was shown in the LC50 values with decreasing values from 2.4 to 0.87 mg/cm^2 for mealworm and from 5.45 to 0.95 mg/cm^2 for superworm. Meanwhile, the positive control abamectin showed weaker efficacy with LC_{50} values of 4.84 to 5.10 mg/cm^2 for mealworms and 4.36 to 4.58 mg/cm^2 for superworms. This result directedly confirmed that EMB microencapsules with slow release and slow dose had effective effects on both superworm and mealworm.

Table 1. LC_{50} values of EMB microcapsules against mealworm (*Tenebrio molitor*) and superworm (*Zophobas morio*).

	EMB microcapsules		**Abamectin**	
	Tenebrio molitor	***Zophobas morio***	***Tenebrio molitor***	***Zophobas morio***
	mg/cm^2	mg/cm^2	mg/cm^2	mg/cm^2
12 hours	2.40	5.45		
24 hours	1.31	1.35		4.58
36 hours	0.87	0.95	5.10	4.55
48 hours	0.87	0.95	4.84	4.36

Abamectin (95%) was used as a positive control. The mortality was observed and counted at 12-hour intervals.

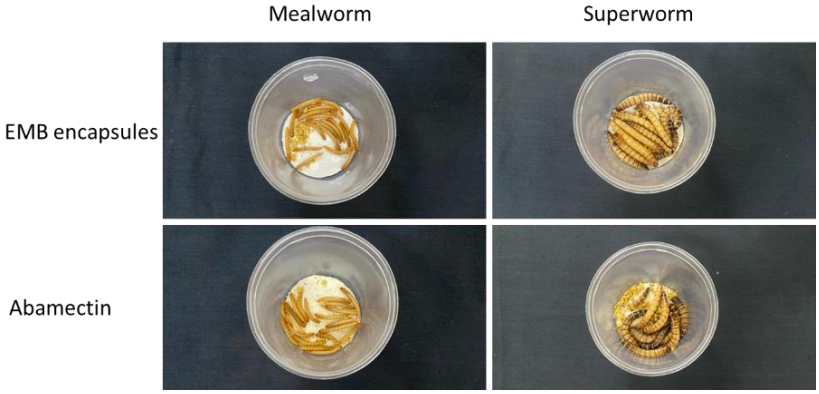


Figure 5. Mealworm (*Tenebrio molitor*) and superworm (*Zophobas morio*) killed by EMB encapsules

3.4. Efficacy of nanoemulsion of Neem-C oil EC in killing mealworms and superworms

The nanoemulsion of Neem-C oil EC was sprayed run-off on the mealworm (*Tenebrio molitor*) and superworm (*Zophobas morio*). The dead insects were observed and counted after 48h treatment and mortality was calculated based on Abott formula. As a result, Neem-C oil nanoemulsion was found to be highly active against both mealworms and superworms. At a concentration of 800-fold dilution of Neem-C oil EC, the formed nanoemulsion containing neem oil and cinnamaldehyde had an efficacy of 80% to 95% (Figure 6), indicating that the material was able to adhere and penetrate deeply into the body of the worm, thereby strongly affecting the enzyme systems inside the body, leading to increased mortality in the tested worms. In a study by Attia et al. (2023), the control efficacy of cinnamon oil encapsulated in silica nanoparticles (CESN, 66% of cinnamon oil) surpassed that of free cinnamon oil against rice moth, *Corcyra cephalonica*.[7] When exposed to 5% and 10% cinnamon essential oil (*Cinnamomum zeylanicum*) killed *Alphitobius diaperinus* larvae and adults. However, the nanoemulsion (1%) and nanocapsules of cinnamon oil (5%) caused mortality in both phases

of *A. diaperinus* life cycle.[8] Neem oil has excellent antibacterial, antifungal, insecticidal, pesticidal, plasticizing and antioxidant properties due to the presence of numerous bioactive phytochemicals such as azadirachtin, salannin, nimbidin, gedunin, nimbin, etc. present in neem oil. The fatty acid composition of neem seed oil is characterized by a saturated/unsaturated fatty acid. Oleic acid is a monounsaturated fatty acid accounting for 25 to 58%, palmitic and stearic are main fatty acid in neem oil. Therefore, neem oil has been used for food preservation, packaging and storage since ancient times. However, its photosensitivity, rapid degradation and effects on the sensory quality of foods pose major challenges to such applications. In recent years, considerable research efforts have been devoted to mitigating these challenges in the application of neem oil and/or neem oil-derived compounds in food preservation and packaging by using novel delivery systems and formulations, e.g., biopolymer-based active food films or coatings and high-performance coatings effective nanoemulsions.[1,9]

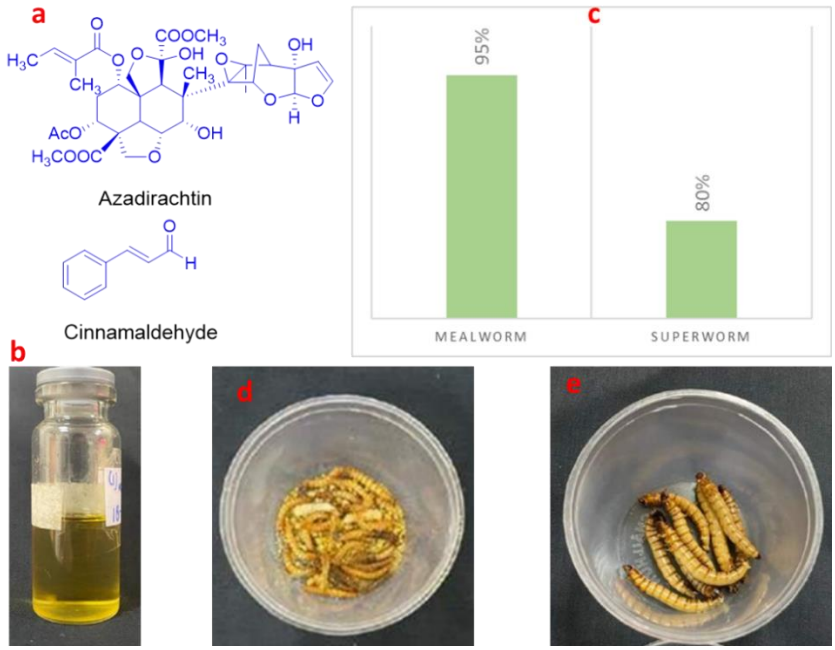


Figure 6. Main active ingredients of neem oil and cinnamon essential oil (a), image of Neem-C oil EC (b) and its insecticidal activity against mealworms (*Tenebrio molitor*) and superworms (*Zophobas morio*) (c) and dead mealworms (d) and dead superworms (e) when tested with nanoemulsion. The Neem-C oil nanoemulsion was formed by dispersing Neem-C oil EC into water at a rate of 800-fold dilution. The mortality was observed after 48 h treatment

4. CONCLUSIONS

The fabrication of nanomaterials containing active ingredients for insecticides has been receiving increasing attention in modern agriculture. Benefits of nanoformulations include the overcoming of poor water solubility of oils and active ingredients and the volatility of essential oils due to the controlled release of the manufactured nanoparticles. Using these nanoparticles at low concentrations actually offers a lot of potential for controlling stored grain pests. In fact, nanomaterials help increase the effectiveness while reducing the amount of active ingredients used in the field. Our research has carried out successfully the fabrication of microcapsules containing EMB with a higher effective effect on mealworms and superworms compared to abamectin. In addition, Neem-C oil nanoemulsion containing neem oil and cinnamon essential oil with an average particle size of 710 nm also has strong effects on the mealworms and

superworms with mortalities of 80 and 95%, respectively. The research suggests the application direction of nano/micro materials in the development of green pesticides and applications to protect cereals from stored grain pests.

Acknowledgement. This research is funded by Vietnam Academy of Science and Technology (VAST) under grant number VAST03.02/23-24.

REFERENCES

1. T. Pasquoto-Stigliani, E. V. R. Campos, J. L. Oliveira, C. M. G. Silva, N. Bilesky-José, M. Guilger, J. Troost, H. C. Oliveira, R. Stolf-Moreira, L. F. Fraceto, R. de Lima. Nanocapsules containing neem (*Azadirachta Indica*) oil: development, characterization, and toxicity evaluation, *Sci. Rep.*, **2017**, *7*, 5929. https://doi.org/10.1038/s41598-017-06092-4.
2. T. N. Ngo, T. C. Ho, T. D. Nguyen, T. T. Tran, D. Q. Le. Fraction and determination of capsaicinoids from red pepper fruits with insecticidal activity against mealworm, *Tenebrio molitor*, and superworm, *Zophobas morio*, *J. Sci. Tech.*, **2017**, *55*(4C), 57-64.
3. M. Pascoli, M. T. Jacques, D. A. Agarrayua, D. S. Avila, R. Lima, L. F. Fraceto. Neem oil based nanopesticide as an environmentally-friendly formulation for applications in sustainable agriculture: An ecotoxicological perspective, *Sci. Total Environ.*, **2019**, *677*, 57-67. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.345.
4. J. Zhu, Y. He, M. Gao, W. Zhou, J. Hu, J. Shen, Y. C. Zhu. Photodegradation of emamectin benzoate and its influence on efficacy against the rice stem borer, *Chilo suppressalis*, *Crop Protection*, **2011**, *30*(10), 1356-1362.
5. M. M. Yin, X. Y. Zhu, F. Chen. Release performance and sustained-release efficacy of emamectin benzoate-loaded polylactic acid microspheres, *J. Integr. Agric.*, **2018**, *17*, 640-647.
6. T. T. Tran, T. D. Nguyen, D. Q. Nguyen, T. N. Ngo, Q.T. Nguyen, H. S. Vu, D. H. Vu, D. Q. Le. Extraction optimization of Annonaceae seeds for the preparation of a botanical pesticide against mealworm *Tenebrio molitor* and superworm *Zophobas morio*, *Vietnam J. Chem.*, **2017**, *55*(3e), 52-58.
7. R. G. Attia, M. M. H. Khalil, M. A. Hussein, H. M. A. Fattah, S. A. Rizk, S. A. M. Ma'moun. Cinnamon oil encapsulated with silica nanoparticles: chemical characterization and evaluation of insecticidal activity against the rice moth, *Corcyra cephalonica*, *Neotrop. Entomol.*, **2023**, *52*, 500-511. https://doi.org/10.1007/s13744-023-01037-1.
8. A. Volpato, D. Baretta, T. Zortéa, G. Campigotto, G. M. Galli, P. Glombowsky, R. C. V. Santos, P. M. Quatrin, A. F. Ourique, M. D. Baldissera, L. M. Stefani, A. S. Da Silva. Larvicidal and insecticidal effect of *Cinnamomum zeylanicum* oil (pure and nanostructured) against mealworm (*Alphitobius diaperinus*) and its possible environmental effects, *J. Asia-Pacific Entomolo.*, **2016**, *19*(4), 1159-1165. https://doi.org/10.1016/j.aspen.2016.10.008.
9. M. R. Forim, E. S. Costa, M. F. da Silva, J. M. Fernandes, J. M. Mondego, A. L. Boiça Junior. Development of a new method to prepare nano-/microcapsules loaded with extracts of *Azadirachta indica*, their characterization and use in controlling *Plutella xylostella*, *J. Agric. Food Chem.*, **2013**, *61*, 9131-9139. https://doi.org/10.1021/jf403187y.

Corresponding author: **Le Dang Quang**
Institute for Tropical Technology
Vietnam Academy of Science and Technology
18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam
Email: ledangquang2011@gmail.com; Tel.: +84-913001862.

SỬ DỤNG GIS ĐỂ NGHIÊN CỨU PHÂN BỐ DƠI Ở VÙNG ĐÔNG BẮC VIỆT NAM: ỨNG DỤNG TRONG THIẾT KẾ KHU VỰC ƯU TIÊN BẢO TỒN

Lê Quang Tuấn[1*], Trần Anh Tuấn[1,2], Vương Tân Tú[1,2], Lê Minh Hạnh[1], Chu Thị Hằng[1]

[1]Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

[2]Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày gửi bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

Các khu bảo tồn thiên nhiên đóng vai trò quan trọng trong việc bảo tồn đa dạng sinh học và các dịch vụ hệ sinh thái. Mặc dù nhiều loài dơi ở Việt Nam đang bị đe dọa, nhưng hiệu quả của các khu bảo tồn trong việc bảo vệ các loài dơi vẫn chưa được hiểu rõ. Nghiên cứu này nhằm mục đích sử dụng khu vực Đông Bắc làm thí điểm để đánh giá tính đại diện của các khu bảo tồn thiên nhiên đối với việc bảo tồn dơi và xác định các khu vực ưu tiên bảo tồn. Chúng tôi đã đánh giá tính đại diện của các khu bảo tồn cho phân bố loài bằng cách sử dụng đầu ra của Mô hình phân bố loài cho 26 loài dơi ở Đông Bắc Việt Nam. Ngoài ra, chúng tôi đã tiến hành phân tích ưu tiên không gian để xác định các khu vực ưu tiên bảo tồn. Kết quả cho thấy ở Đông Bắc các khu bảo tồn hiện có chỉ bao phủ 6,78% vùng phân bố dơi ở khu vực này và 100% các loài dơi có mức đại diện phân bố kém. Phân tích ưu tiên không gian chỉ ra rằng các khu rừng ở Cao Bằng, Bắc Kạn, Tuyên Quang là khu vực cần ưu tiên bảo tồn cho dơi. Việc mở rộng khu bảo tồn để bao phủ 9% và 30% diện tích đất ở Đông Bắc có thể cải thiện diện tích bảo vệ từ 6,78% lên lần lượt là 42,40% và 85,31%, và giảm số lượng loài dơi ít được đại diện từ 26 loài xuống còn 23 loài và 0 loài (88,4% và 0%). Những phát hiện này cung cấp những hiểu biết quan trọng cho các nhà hoạch định chính sách trong việc tối ưu nguồn lực và cải thiện hiệu quả bảo tồn không chỉ loài dơi ở Đông Bắc Việt Nam mà cho nhiều nhóm loài khác và ở những khu vực khác.

Từ khóa: Chiroptera, mô hình phân bố loài, ưu tiên bảo tồn không gian, khu bảo tồn thiên nhiên.

1. MỞ ĐẦU

Việc thành lập các khu bảo tồn thiên nhiên (KBT) là biện pháp chính để bảo tồn đa dạng sinh học, nhưng tính hiệu quả của KBT vẫn chưa cao trên toàn thế giới, đặc biệt là ở các nước đang phát triển.[1] Ngoài việc quản lý kém, việc thiếu sự đại diện cho đa dạng sinh học (ĐDSH) cũng thường là yếu tố gây ra sự kém hiệu quả của các KBT.[2] Việc thiếu tính đại diện của các KBT bắt gặp phổ biến hơn ở các nước đang phát triển thuộc vùng nhiệt đới, mặc dù khu vực này là điểm nóng về ĐDSH[3,4] Việc các KBT thiếu tính đại diện có nhiều tác động tiêu cực đến đa dạng sinh học. Hậu quả của nó bao gồm gia tăng nguy cơ tuyệt chủng đến loài, mất các dịch vụ hệ sinh thái và giảm khả năng chống chịu lại biến khí hậu.[4] Do đó, việc cải thiện tính đại diện của các KBT là điều cần thiết để bảo vệ đa dạng sinh học và duy trì sức khỏe cũng như chức năng của các hệ sinh thái trên toàn thế giới.

Cho đến nay, khu hệ dơi ở Việt Nam đã ghi nhận khoảng 120 loài, chiếm hơn một phần ba các loài thú của cả nước và khoảng 10% tổng số loài dơi trên thế giới.[5,6] Các loài dơi của Việt Nam được xem là nhóm sinh vật có thể dùng làm chỉ thị cho hiện trạng ĐDSH chung bởi chúng không chỉ là thành phần quan trọng của khu hệ thú bản địa mà còn nhạy cảm với những sự thay đổi môi trường.[5,7] Tuy vậy, phần lớn các quần thể dơi ở Việt Nam đang bị đe doạ tuyệt chủng do môi trường sống của chúng bị thu hẹp, xáo trộn hay bị săn bắt quá mức. Trong

khi đó, các dẫn liệu cơ bản về hiện trạng đa dạng thành phần loài và phân bố của các loài dơi ở Việt Nam vẫn còn đang được thu thập.[5,8]

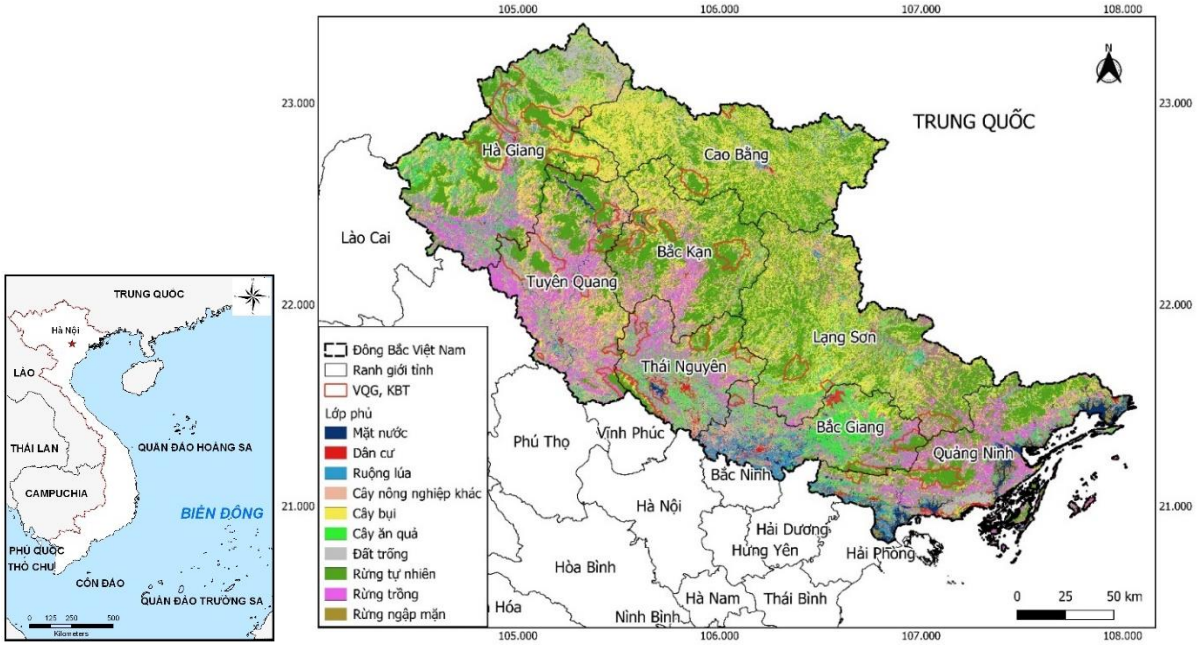
Khu vực Đông Bắc Việt Nam có khoảng hơn 9.000 km^2 diện tích núi đá vôi, là nơi cung cấp môi trường sống quan trọng cho nhiều loài sinh vật, bao gồm cả những loài đặc hữu quý hiếm.[9,10] Khu vực này đã ghi nhận khoảng 80 loài dơi chiếm hơn 60% tổng số loài dơi ở Việt Nam. Mặc dù dẫn đầu cả nước về số lượng các công trình nghiên cứu, những dẫn liệu hiện biết về đa dạng và phân bố của các loài dơi ở vùng Đông Bắc vẫn còn nhiều hạn chế do nhiều nơi chưa được khảo sát hoặc khảo sát chưa đầy đủ, hay tình trạng phân loại của nhiều loài chưa rõ ràng.[8,11,12]

Trong bối cảnh Việt Nam, tính đại diện của các khu bảo tồn đối với đa dạng sinh học nói chung và đối với nhóm dơi nói riêng vẫn ít được chú ý. Mặc dù đã có 191 KBT được thành lập, chiếm 7,8% diện tích đất liền, nhưng chỉ có 22,9% trong số các khu bảo tồn này được đánh giá về tính hiệu quả. Hơn nữa, hầu hết các đánh giá đều tập trung vào bảo vệ ĐDSH chung mà chưa có đánh giá nào riêng cho dơi (Protected Planet, https://protectedplanet.net truy cập tháng 11 năm 2024). Để khắc phục tình trạng trên, chúng tôi thực hiện nghiên cứu với mục tiêu là (1) Dự đoán vùng tiềm năng phân bố cho dơi ở Đông Bắc Việt Nam; (2) Đánh giá mức độ đại diện của các KBT hiện có đối với phân bố dơi; (3) Xác định các khu vực ưu tiên bảo tồn cho dơi nhằm nâng cao hiệu quả bảo tồn.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm nghiên cứu

Địa điểm nghiên cứu là khu vực Đông Bắc Việt Nam bao gồm đất liền và đảo ở các tỉnh Hà Giang, Tuyên Quang, Cao Bằng, Bắc Kạn, Thái Nguyên, Lạng Sơn, Bắc Giang, Quảng Ninh (Hình 1).



Hình 1. Vị trí khu vực nghiên cứu. Thông tin về lớp phủ mặt đất được lấy từ HRLULC 10 m resolution map of Vietnam (HRLULC 2016, truy cập tại https://www.eorc.jaxa.jp/ALOS/en/lulc/data/index.htm)

2.2. Dữ liệu phân bố loài

Chúng tôi đã thu thập được bộ dữ liệu ghi nhận phân bố dơi từ nhiều nguồn khác nhau. Đa số các bản ghi phân bố dơi được tải xuống từ Cơ sở Thông tin Đa dạng Sinh học Toàn cầu

(GBIF), rà soát từ các công bố trên Web of Science, Google Scholar và trên một số tạp chí Việt Nam. Ngoài ra, dữ liệu phân bố dơi cũng được thu thập từ các đợt thực địa. Chúng tôi tiến hành định loại sơ bộ các cá thể dơi thu được, xác định giới tính, tình trạng sinh sản và các đặc điểm sinh thái của chúng dựa trên sách hướng dẫn hoặc chuyên khảo.[5, 13] Tất cả các dữ liệu được kiểm tra và chuẩn hoá tên khoa học theo Simmons and Cirranello (2024).[6]

2.3. Dữ liệu về môi trường

Để xây dựng mô hình phân bố loài, dựa theo các nghiên cứu trên dơi trước đây (ví dụ như Herkt et al., (2016) và Zamora-Gutierrez et al., (2018)), chúng tôi sử dụng những yếu tố môi trường sau: sinh khí hậu, lớp phủ và địa chất (Bảng S1 & S2). Chúng tôi đã thu được 19 biến sinh khí hậu từ CHELSA (Phiên bản 2.1).[16] Để tránh vấn đề đa tương quan giữa các biến môi trường có thể ảnh hưởng đến hiệu quả dự đoán của mô hình chúng tôi tính tỷ lệ tương quan giữa các yếu tố (Hình S1). Sau đó chúng tôi loại bỏ những biến môi trường có tỷ lệ tương quan cao ($r \geq |0,75|$).[17]

Dữ liệu lớp phủ mặt đất được lấy từ sản phẩm HRLULC 10m resolution map of Vietnam (HRLULC 2016, truy cập tại https://www.eorc.jaxa.jp/ALOS/en/lulc/data/index.htm). Sản phẩm này phân loại Việt Nam thành 12 loại lớp phủ ở độ phân giải 10m. Chúng tôi đã tính toán phần trăm lớp phủ của từng loại lớp phủ đất trong mỗi ô lưới 1×1 km. Do các khu vực karst cung cấp hang động làm nơi trú ngụ cho nhiều loài dơi ở Việt Nam,[8] chúng tôi cũng đưa sự phân bố của karst vào như một biến trong các mô hình phân bố loài của mình. Chúng tôi đã thu được một lớp dữ liệu toàn cầu với các đa giác phân định các khu vực có đá cacbonat từ bản đồ thế giới về các mỏm đá cacbonat V3.0 (https://digital.lib.usf.edu/SFS0055342/00001). Các lớp phủ mặt đất, núi đá vôi được chuyển về cùng độ phân giải 1km để trùng với độ phân giải của dữ liệu sinh khí hậu.

Sau khi chọn lọc, các yếu tố được sử dụng là nhiệt độ trung bình năm (bio1), chênh lệch nhiệt độ ngày (bio2), đẳng nhiệt (bio3), dao động nhiệt độ theo mùa (bio4), nhiệt độ quý nóng nhất (bio10), lượng mưa trung bình năm (bio12), dao động lượng mưa theo mùa (bio15), đá vôi, rừng tự nhiên, rừng trồng, vườn cây và khu dân cư.

2.4. Mô hình phân bố loài

Để xây dựng bản đồ phân bố cho từng loài, chúng tôi sử dụng phần mềm Maxent 3.4.3. Ưu điểm của Maxent là thuật toán chỉ yêu cầu dữ liệu có mặt (presence data) mà không đòi hỏi dữ liệu vắng mặt (absence data) đã cho thấy độ ổn định và chính xác hơn các thuật toán khác.[18-19] Chúng tôi chỉ xây dựng mô hình cho các loài đã có ít nhất 5 vị trí ghi nhận, vì cỡ mẫu 5 được coi là đủ lớn cho nhiều loại đơn vị phân loại ở nhiều khu vực địa lý.[20-21]

Với mỗi loài, chúng tôi chọn ngẫu nhiên 80% dữ liệu phân bố để chạy mô hình và dùng 20% còn lại để kiểm định. Chúng tôi đánh giá độ hiệu quả của mô hình bằng giá trị vùng nằm dưới đường cong (AUC) lớn nhất của đồ thị thu nhận (ROC). Giá trị AUC có biên độ từ 0,5 đối với các mô hình không có khả năng dự đoán (khả năng dự đoán tương đương với mô hình ngẫu nhiên) đến 1,0 là mô hình có khả năng dự đoán lý tưởng.[22] Giá trị AUC từ 0,7-0,8 chỉ mô hình tương đối tốt, từ 0,8-0,9 chỉ mô hình tốt và trên 0,9 chỉ mô hình rất tốt.[23]

2.5. Phân tích ưu tiên bảo tồn không gian

Khu vực ưu tiên bảo tồn cho dơi được phân tích bằng phần mềm Zonation.[24] Zonation xếp hạng tất cả các ô trong một khu vực nghiên cứu theo giá trị bảo tồn của chúng, được định lượng theo tính bổ sung và không thể thay thế của các loài, sau đó loại bỏ các ô có thứ hạng thấp nhất.[24] Quá trình này lặp lại theo từng bước cho đến khi các ô còn lại đạt được mục tiêu bảo tồn do người dùng đặt ra. Trong nghiên cứu này, chúng tôi được sử dụng thuật toán ABF giúp cân bằng vai trò của nhiều loài trong kế hoạch bảo tồn.[25] Giá trị bảo toàn cho ô *i* (δi) được tính như sau:

$$\delta_i = \frac{1}{c_i} w_j \sum_j \Delta V_j = \frac{1}{c_i} w_j \sum_j [V_j(q_j) - V_j(q_j - i)],$$

trong đó: q_j là mức đại diện phân bố của loài j trong các ô còn lại, q_j -*i* biểu thị mức đại diện phân bố của loài *j* của các ô còn lại không bao gồm ô *i*, do đó ΔVj thể hiện sự giảm tính đại diện của loài j khi loại bỏ ô *i; w_j* là trọng số của loài j, trong đó trọng số cao hơn được gán cho các loài nguy cấp quí hiếm. *ci* là mức phí tổn thất do thu hồi đất để thực hiện bảo tồn tại ô *i*. Do đó, giá trị δ cao thể hiện mức độ quan trọng tương đối của một ô về mặt bảo tồn.

Trọng số của mỗi loài được tính dựa trên tình trạng bảo tồn của IUCN với trọng số lớn được gán cho các loài có nguy cơ đe doạ cao.[26] Cụ thể, chúng tôi gán trọng số bằng 1 cho các loài ít quan tâm (LC), 2 cho các loài sắp bị đe dọa (NT), 3 cho các loài dễ bị tổn thương (VU), 4 cho các loài có nguy cơ tuyệt chủng (EN) và 5 cho các loài cực kỳ nguy cấp (CR). Chúng tôi căn cứ vào hiện trạng lớp phủ mặt đất để tính chi phí thu hồi đất. Cụ thể chúng tôi gán giá trị 10 cho các loại lớp phủ đất tự nhiên (rừng tự nhiên) và giá trị 1 cho các loại lớp phủ đất liên quan đến con người (đô thị).[27] Trong mỗi lần lặp lại, chúng tôi áp dụng chức năng "loại bỏ từ vùng biên" để loại bỏ các ô có thứ hạng thấp nhất khỏi các rìa của các mảng ô còn lại để duy trì khả năng kết nối của các ô còn lại ở mức cao nhất có thể. Chúng tôi đã gán giá trị bảo tồn cao nhất cho các ô trong các KBT hiện tại để đảm bảo chúng được đưa vào các khu vực ưu tiên. Ranh giới các KBT của được lấy từ Cơ sở dữ liệu thế giới về các khu bảo tồn (WDKBT[28]).

Chúng tôi đã xem xét hai mục tiêu bảo tồn trong quá trình ưu tiên. Thứ nhất, theo Chiến lược quốc gia về Đa dạng sinh học của Việt Nam đến năm 2030, tầm nhìn 2050 (Quyết định số 149/QĐ-TTg ngày 28/01/2022 của Thủ tướng Chính phủ), các khu bảo tồn dự kiến sẽ bao phủ 9% diện tích đất vào năm 2030. Thứ hai, phù hợp với Mục tiêu 3 của Khung đa dạng sinh học toàn cầu của CBD, nhằm mục đích tăng phạm vi bao phủ của các khu bảo tồn và các biện pháp hiệu quả khác dựa trên khu vực lên 30% diện tích đất toàn cầu vào năm 2030[29], chúng tôi cũng đặt mục tiêu bao phủ 30% diện tích đất ở Đông Bắc. Vì các khu bảo tồn hiện tại (bao phủ ~5% diện tích đất ở Đông Bắc) luôn được đưa vào các khu bảo tồn được ưu tiên, chúng tôi đã xác định thêm 4% và 25% diện tích để đạt được các mục tiêu bảo tồn quốc gia và toàn cầu tương ứng.

2.6. Tính đại diện cho phân bố của các loài dơi

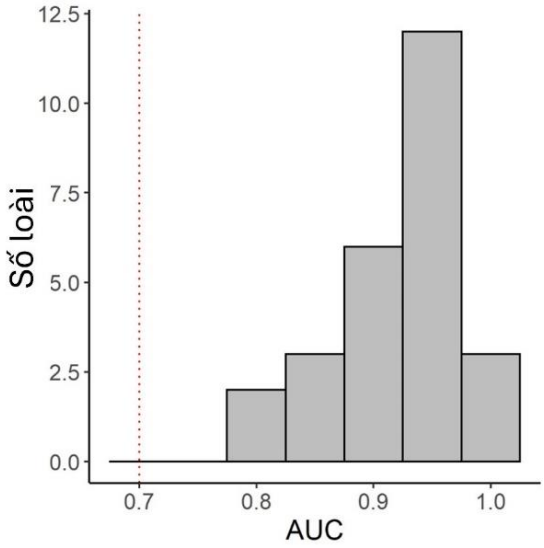
Chúng tôi đánh giá tính đại diện của các KBT và khu vực ưu tiên bảo tồn cho dơi ở Đông Bắc bằng hai phương pháp. Đầu tiên, chúng tôi tính toán tỷ lệ diện tích phân bố của từng loài dơi được bao phủ bởi KBT và các khu vực ưu tiên.[30,31] Thứ hai, chúng tôi đánh giá tính đại diện dựa trên số loài dơi có mức độ đại diện tốt. Loài có mức độ đại diện tốt được đánh giá dựa trên cách tiếp cận được nêu trong (Rodrigues et al., 2004) và González-Maya et al., 2015 nhưng điều chỉnh nó cho các loài dơi ở Đông Bắc với quy mô phạm vi bảo vệ được sửa đổi. Cụ thể, đối với các loài có phạm vi phân bố hẹp (diện tích phân bố < 1.000 km^2), chúng được coi là có đại diện tốt nếu 100% phạm vi của chúng được bao phủ bởi các khu bảo tồn hoặc các khu vực ưu tiên; đối với những loài có phạm vi phân bố rộng (diện tích phân bố > 25.000 km^2), chúng được coi là có đại diện tốt nếu ít nhất 10% diện tích phân bố của chúng được bảo vệ; và đối với những phạm vi ở giữa, tiêu chuẩn bao phủ được xác định bằng phép nội suy tuyến tính giữa 10% và 100% dựa trên diện tích phân bố.

3. KẾT QUẢ

3.1. Dự đoán về sự phân bố của các loài dơi ở Đông Bắc Việt Nam

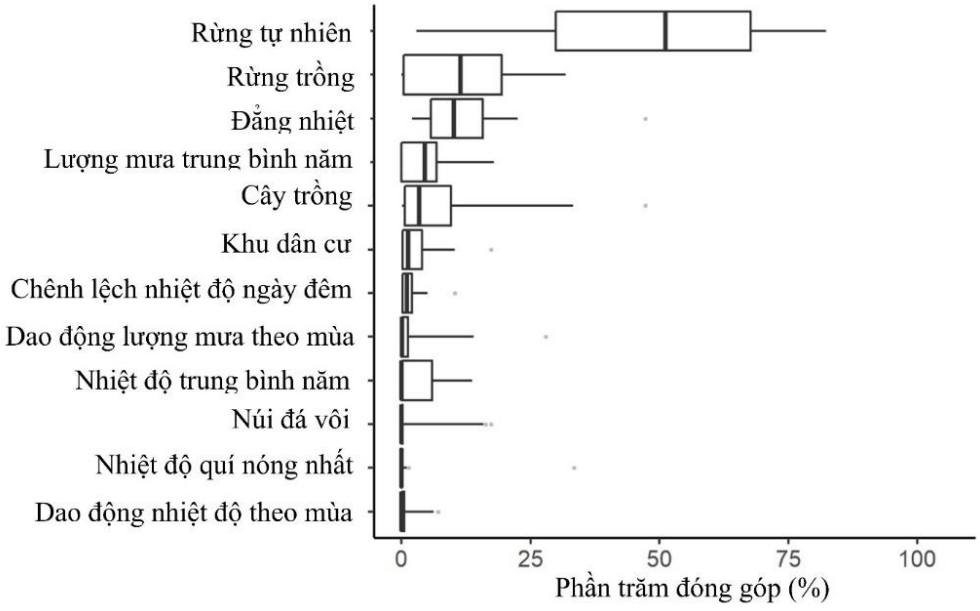
Chúng tôi đã xây dựng được mô hình phân bố loài cho 26 loài dơi ở vùng Đông Bắc Việt Nam. Tất cả các mô hình đều cho giá trị AUC lớn hơn 0,7, trong đó 22 mô hình (chiếm

92%) cho giá trị AUC lớn hơn 0,8 chứng tỏ mô hình có mức độ dự đoán chính xác là tương đối cao và rất cao (Hình 2).



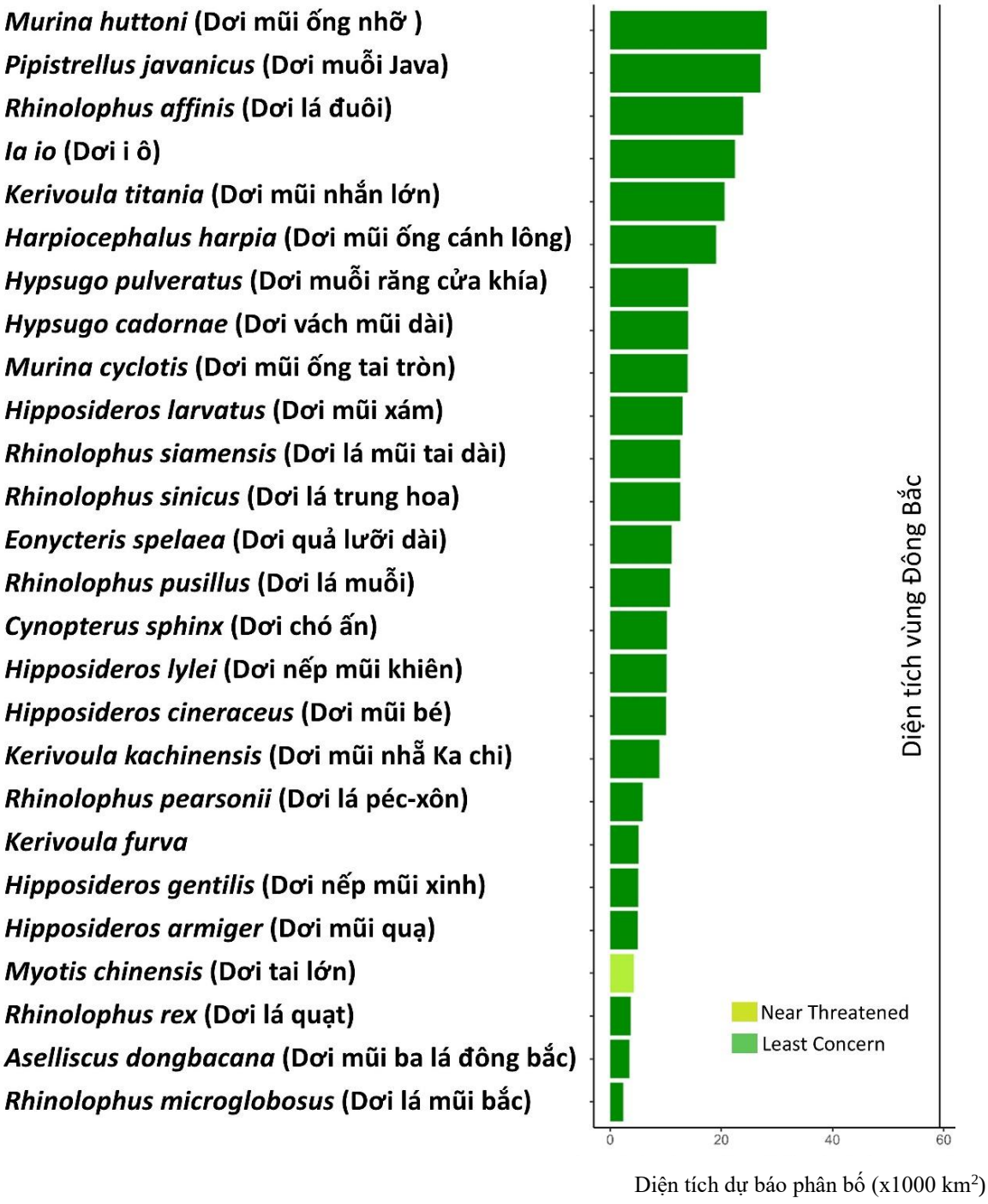
Hình 2. Biểu đồ giá trị AUC của các mô hình.

Mức độ quan trọng đối với phân bố dơi dao động lớn giữa các yếu tố địa môi trường. Trong số các yếu tố môi trường thì rừng tự nhiên, rừng trồng và đẳng nhiệt (bio3) có vai trò quan trọng nhất. Ngược lại, nhiệt độ quí nóng nhất (bio10) và dao động nhiệt độ theo mùa (bio4) là các yếu tố ít ảnh hưởng đến phân bố dơi nhất (Hình 3).



Hình 3. Mức độ quan trọng của các yếu tố môi trường trong Mô hình phân bố loài.

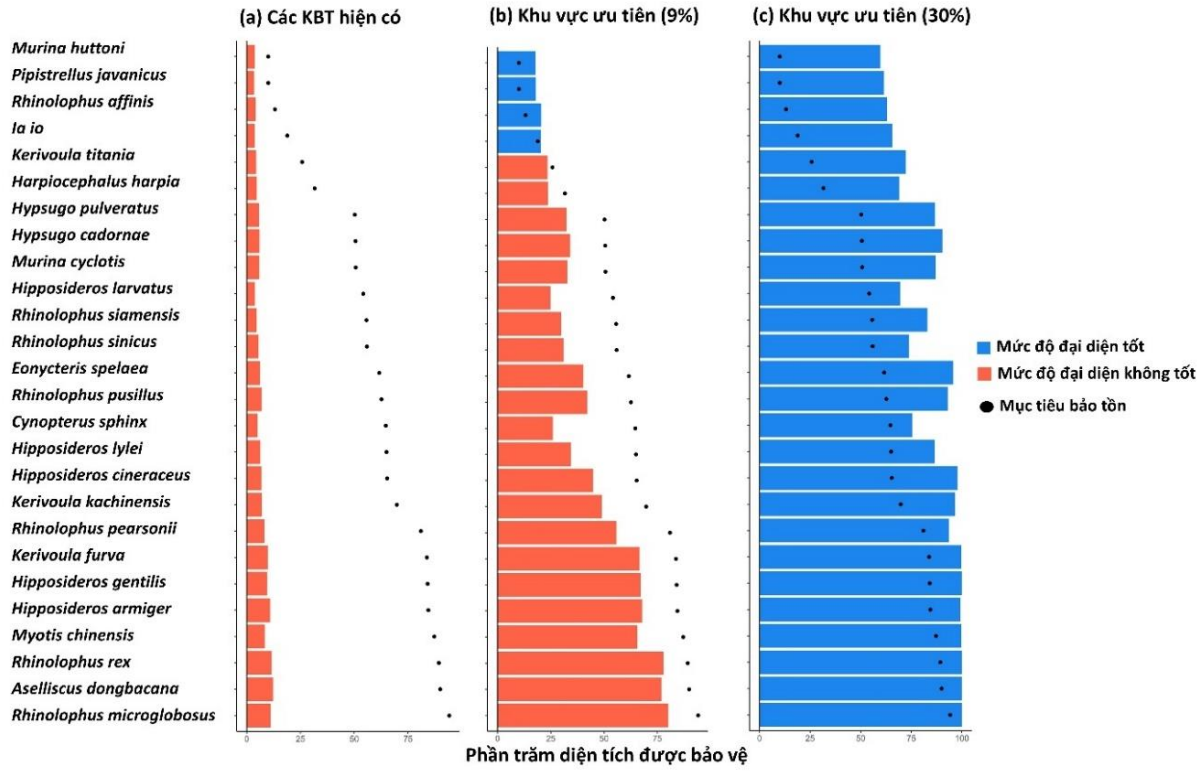
Dựa vào kết quả đầu ra của Mô hình phân bố loài, các loài dơi ở Đông Bắc Việt Nam được dự đoán có diện tích phân bố dao động từ 2.359-28.111 km^2. Hầu hết các loài có mức phân bố trung bình, chỉ có 02 loài có phân bố rộng (diện tích phân bố > 25.000 km^2) là *Murina huttoni* và *Pipistrellus javanicus*. Không có loài nào có phân bố hẹp (diện tích phân bố < 1.000 km^2) (Hình 4).



Hình 4. Dự đoán diện tích phân bố của các loài dơi tại Đông Bắc Việt Nam. Các loài được xắp xếp theo diện tích phân bố của chúng ở Đông Bắc

3.2. Tính đại diện của các khu bảo tồn hiện tại dành cho loài dơi

Kết quả phân tích cho thấy có 6,78% (3,40-12,17%) phạm vi phân bố của các loài dơi ở Đông Bắc nằm trong các KBT hiện có (Hình 5a). Độ bao phủ trung bình cao hơn độ che phủ của các KBT hiện tại ở Đông Bắc (4,91%), cho thấy các KBT hiện tại có tính đại diện cho phân bố các loài dơi cao hơn mức ngẫu nhiên. Tuy nhiên tất cả các loài dơi có mức độ đại diện ở các KBT ở mức kém (Hình 5a).



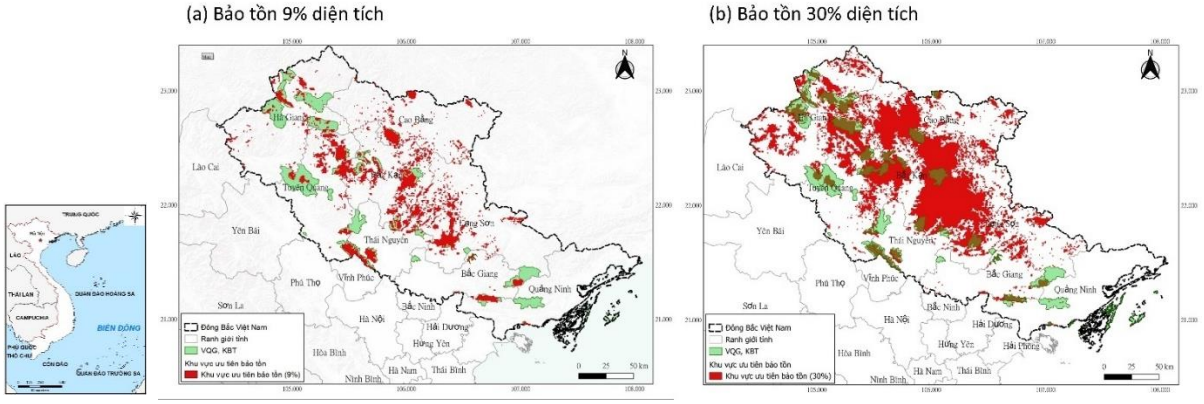
Hình 5. Tính đại diện của các khu bảo tồn hiện tại (a), các khu vực ưu tiên với mục tiêu bao phủ 9% (b) và các khu vực ưu tiên với mục tiêu bao phủ 30% (c)

Tính đại diện được đo bằng tỷ lệ phạm vi phân bố của một loài được bao phủ bởi các khu bảo tồn hoặc các khu vực ưu tiên. Các chấm chỉ ra tiêu chí để một loài được coi là loài có đại diện tốt. Các loài được sắp xếp theo kích thước phạm vi hiện tại của chúng trong phạm vi Việt Nam.

3.3. Tính đại diện của các khu vực ưu tiên cho loài dơi

Với mục tiêu che phủ 9% (mục tiêu quốc gia), phân tích ưu tiên không gian chỉ ra rằng một số khu vực rừng ở Cao Bằng, Bắc Kạn, Tuyên Quang là khu vực tiềm năng để thêm vào hệ thống các VQG, KBT hiện tại để nâng cao mức đại diện đối với loài dơi (Hình 6a). Các khu vực ưu tiên bao phủ 42,40% (17,73-80,08%) phạm vi phân bố của các loài dơi (Hình 5b). Ngoài ra, 3 loài (11,5%), có phạm vi của chúng được đại diện tốt bởi các khu vực được ưu tiên (Hình 5b). Những kết quả này chỉ ra rằng sự gia tăng từ 5% lên 9% về quy mô của mạng lưới KBT có thể dẫn đến sự gia tăng từ 6,78% lên 42,40% về tính đại diện cho loài dơi.

Với mục tiêu bảo vệ 30% diện tích (mục tiêu toàn cầu), phân tích ưu tiên không gian chỉ ra rằng các khu rừng ở các tỉnh Cao Bằng, Bắc Kạn, Tuyên Quang, Hà Giang là khu vực thích hợp để mở rộng diện tích các KBT nhằm cải thiện tính đại diện của nó đối với loài dơi (Hình 6b). Các khu vực ưu tiên bao phủ 85,31% (59,72-100,00%) phạm vi phân bố của các loài dơi (Hình 5c). Ngoài ra, 26 loài (100%), có phạm vi của chúng được đại diện tốt bởi các khu vực được ưu tiên (Hình 5c). Những kết quả này chỉ ra rằng việc tăng từ 5% lên 30% về quy mô của mạng lưới KBT có thể dẫn đến mức tăng từ 6,78% lên 85,31% về tính đại diện cho loài dơi.



Hình 6. Bản đồ các khu vực ưu tiên bảo tồn cho dơi với mục tiêu bao phủ 9% (a) và 30% (b)

4. THẢO LUẬN

Tính đại diện của loài dơi ở Đông Bắc tương tự như loài dơi ở Brazil (6,8%)[32] và thấp hơn so với nhiều loài dơi khác, bao gồm cả loài dơi toàn cầu (30%),[30] động vật có vú ở Costa Rica (28,3%)[31] và các loài chim ở các vùng nhiệt đới (10%).[33] Mức độ đại diện thấp của các KBT đối với phân bố của loài dơi ở Đông Bắc nói riêng và trên thế giới nói chung có thể là do để dơi có khả năng bay tốt dẫn đến khả năng phân tán rộng.[33,32] Ngoài ra, mức độ đại diện thấp của các KBT cũng có thể do khi thành lập căn cứ vào nhiều khía cạnh như các sinh cảnh đặc trưng và các loài đặc hữu quí hiếm chứ không chú trọng riêng cho loài dơi.[34]

Mặc dù Đông Bắc Việt Nam là một trong những điểm nóng về đa dạng dơi, nhưng kết quả của chúng tôi cho thấy mạng lưới các KBT hiện tại chưa đủ để bảo vệ các vùng phân bố của dơi. Nhiều nghiên cứu trước đây cũng chỉ ra rằng cần phải mở rộng các KBT để ngăn ngừa suy giảm đa dạng loài trong dài hạn ở Việt Nam.[35,36] Nhằm đạt được mục tiêu trong Chiến lược của Chính phủ Việt Nam về quản lý các khu bảo tồn và khuôn khổ đa dạng sinh học sau năm 2020 và mục tiêu đa dạng sinh học đến năm 2030,[29,37] phân tích ưu tiên không gian cung cấp thông tin về khu vực tối ưu để mở rộng các KBT.

Khu vực rừng ở Cao Bằng, Bắc Kạn, Tuyên Quang là những vùng có tiềm năng mở rộng các KBT ở Đông Bắc. Đây là khu vực núi đá vôi, sinh cảnh phù hợp của nhiều loài dơi. Hầu hết các khu vực ưu tiên được lựa chọn này đã được công nhận là những khu vực có hiện trạng thực vật tốt và có tính đa dạng sinh học cao. Do đó, đầu tư nỗ lực vào các khu vực đó cũng có thể bảo vệ đa dạng sinh học nói chung. Tuy nhiên, nạn phá rừng diễn ra nhanh chóng do sự can thiệp mạnh mẽ của con người là một thách thức đối với quá trình thiết lập các khu bảo tồn ở các khu vực này.[38] Bên cạnh đó, mục tiêu bảo vệ 30% diện tích đất liền là khó khả thi vì mục tiêu này cách khá xa so với mức độ che phủ của các khu bảo tồn hiện tại và mục tiêu bảo vệ của quốc gia.[37]

Cách tiếp cận của ghiên cứu này có thể được mở rộng bằng cách kết hợp các khía cạnh khác của đa dạng sinh học, bổ sung các nhóm loài khác và mục tiêu bảo tồn khác. Trong nghiên cứu này, chúng tôi ưu tiên các khu vực bảo tồn khi xem xét sự phân bố của loài dơi. Tuy nhiên, cách tiếp cận này nó có thể bỏ qua một số thành phần quan trọng khác của đa dạng sinh học. Vấn đề này có thể được cải thiện bằng cách bổ sung các khía cạnh khác của đa dạng sinh học như đa dạng chức năng sinh thái hay đa dạng di truyền.[39] Ngoài ra, bằng cách phân tích cho nhiều loài và mục tiêu bảo tồn vào quy trình ưu tiên, chúng tôi có thể tạo ra một chiến lược bảo tồn toàn diện hơn, phản ánh sự phụ thuộc lẫn nhau phức tạp trong các hệ sinh thái. Việc mở rộng cách tiếp cận để bao gồm nhiều loài và chức năng sinh thái hơn sẽ đảm bảo rằng các nỗ lực bảo tồn mang tính toàn diện hơn.[40]

5. KẾT LUẬN

Đây là nghiên cứu đầu tiên đánh giá mức độ đại diện và xác định khu vực ưu tiên bảo tồn cho dơi ở Đông Bắc Việt Nam. Kết quả nghiên cứu cho thấy các KBT hiện tại ở Đông Bắc chưa có sự đại diện đầy đủ cho phân bố của dơi. Tuy nhiên, thông tin không gian rõ ràng về các khu vực ưu tiên bảo tồn đã giúp tối ưu hóa việc bảo vệ phân bố dơi. Các khu vực rừng ở Cao Bằng, Bắc Kạn, Tuyên Quang là những nơi thích hợp để mở rộng các khu bảo tồn hiện có. Những phát hiện này cung cấp những thông tin quan trọng để xây dựng chiến lược bảo tồn không chỉ loài dơi mà còn cho đa dạng sinh học nói chung ở Việt Nam. Phương pháp/quy trình tương tự như trong nghiên cứu này được khuyến khích áp dụng cho nghiên cứu và bảo tồn các nhóm loài khác và ở khu vực khác.

Lời cảm ơn: Bài báo được sự hỗ trợ của đề tài QTBG01.04/26-27 do TS. Lê Quang Tuấn làm chủ nhiệm và đề tài KHCBTĐ.02/22-24 do TS. Trần Anh Tuấn làm chủ nhiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Leverington F., Costa KL., Pavese H., Lisle A., Hockings M. A global analysis of protected area management effectiveness, *Environ Manage*, **2010**, *46*, 685-698. doi: 10.1007/S00267-010-9564-5/METRICS.
2. Rodrigues ASL., Akçakaya HR., Andelman SJ., Bakarr MI., Boitani L., Brooks TM., et al. Global gap analysis: Priority regions for expanding the global protected-area network, *Bioscience*, **2004**, *54*, 1092-1100. DOI: 10.1641/0006-3568(2004)054[1092:GGAPRF]2.0.CO.
3. Villalobos F., Dobrovolski R., Provete DB., Gouveia SF. Is Rich and Rare the Common Share? Describing Biodiversity Patterns to Inform Conservation Practices for South American Anurans, *PLoS One*, **2013**, *8*, e56073. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0056073.
4. Bax V., Francesconi W. Conservation gaps and priorities in the Tropical Andes biodiversity hotspot: Implications for the expansion of protected areas, *J Environ Manage*, **2019**, *232*, 387-396. DOI: 10.1016/j.jenvman.2018.11.086.
5. Kruskop SV. Bats of vietnam Checklist and an identification manual. Tovarishchestvo nauchnykh izdaniĭ KMK; **2013**. Available: http://zmmu.msu.ru/bats/science/fauna/vietnam/vietbats.pdf.
6. Simmons N., Cirranello AL. Bat species of the world: A taxonomic and geographic database. Version 1.6. **2024** [cited 5 Oct 2024]. Available: https://www.batnames.org/.
7. Altringham JD. Bats: from evolution to conservation. Oxford University Press, **2011**.
8. Furey NM., Mackie IJ., Racey PA. Bat diversity in Vietnamese limestone karst areas and the implications of forest degradation, *Biodivers Conserv.*, **2010**, *19*, 1821-1838. DOI: 10.1007/s10531-010-9806-0.
9. Sterling EJ., Hurley MM. Conserving Biodiversity in Vietnam: Applying Biogeography to Conservation Research, *Proc Calif Acad Sci I)*, **2005**, *4*. Available: https://www.researchgate.net/profile/Martha_Hurley/publication/276410935_Conserving_Biodiversity_in_Vietnam_Applying_Biogeography_to_Conservation_Research_Conserving_Biodiversity_in_Vietnam_Applying_Biogeography_to_Conservation_Research/links/5558e39908ae.
10. Sterling EJ., Hurley MM., Le MD. Vietnam : a natural history. Yale University Press, **2006**. Available: https://yalebooks.yale.edu/book/9780300106084/vietnam-natural-history
11. Thong VD., Denzinger A., Van Sang N., Huyen NTT., Thanh HT., Loi DN. et al. Bat diversity in cat ba biosphere reserve, northeastern vietnam: A review with new records from mangrove ecosystem, *Diversity*, **2021**, *13*, 376. doi: 10.3390/d13080376.
12. Tu VT., Hassanin A., Görföl T., Arai S., Fukui D., Thanh HT. et al. Integrative taxonomy of the *Rhinolophus macrotis* complex (Chiroptera, Rhinolophidae) in Vietnam and nearby regions, *J Zool Syst Evol Res*., **2017**, *55*, 177-198. DOI: 10.1111/jzs.12169.

13. Francis CM. Field guide to the mammals of South-east Asia. Bloomsbury Publishing, **2019**.

14. Herkt KMB., Barnikel G., Skidmore AK., Fahr J. A high-resolution model of bat diversity and endemism for continental Africa, *Ecol Modell*., **2016**, *320*, 9-28. DOI: 10.1016/j.ecolmodel.2015.09.009.

15. Zamora-Gutierrez V, Pearson RG, Green RE, Jones KE. Forecasting the combined effects of climate and land use change on Mexican bats, *Divers Distrib*., **2018**, *24*, 363-374. DOI: 10.1111/ddi.12686.

16. Karger D., Conrad O., Böhner J., Kawohl T., Kreft H., Soria-Auza R., et al. Data from: Climatologies at high resolution for the earth's land surface areas, *EnviDat*., **2018**.

17. Warren DL., Seifert SN. Ecological niche modeling in Maxent: the importance of model complexity and the performance of model selection criteria. *Ecol Appl*. **2011**, *21*, 335-342. DOI: 10.1890/10-1171.1.

18. Hernandez PA., Graham CH., Master LL., Albert DL. The effect of sample size and species characteristics on performance of different species distribution modeling methods, *Ecography (Cop)*, **2006**, *29*, 773-785. Doi: 10.1111/j.0906-7590.2006.04700.x.

19. Radosavljevic A., Anderson RP. Making better M AXENT models of species distributions: complexity, overfitting and evaluation, **2014**, 629-643. DOI: 10.1111/jbi.12227.

20. Daniel LH., Dena MV., Erika SZ., Zdravka T., Jae RP., Stuart W., et al. Nitrogen pollution is linked to US listed species declines, *Bioscience*, **2016**, *66*, 213-222. DOI: 10.1093/BIOSCI.

21. Wisz MS., Hijmans RJ., Li J., Peterson AT., Graham CH., Guisan A., et al. Effects of sample size on the performance of species distribution models, *Divers Distrib*., **2008**, *14*, 763-773. DOI: 10.1111/j.1472-4642.2008.00482.x

22. Fielding AH., Bell JF. A review of methods for the assessment of prediction errors in conservation presence/absence models, *Environ Conserv*., **1997**, *24*, 38-49. doi: 10.1017/S0376892997000088.

23. Elith JH., Graham C. P., Anderson R., Dudík M., Ferrier S., Guisan A., et al. Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data, *Ecography (Cop)*., **2006**, *29*, 129-151. DOI: 10.1111/j.2006.0906-7590.04596.x.

24. Moilanen A, Franco AMA, Early RI, Fox R, Wintle B, Thomas CD. Prioritizing multiple-use landscapes for conservation: Methods for large multi-species planning problems. *Proc. R. Soc. B. Biol. Sci*., **2005**, *272*, 1885-1891. DOI: 10.1098/rspb.2005.3164.

25. Moilanen A. Landscape Zonation, benefit functions and target-based planning: Unifying reserve selection strategies, *Biol Conserv*., **2007**, *134*, 571-579. DOI: 10.1016/J.BIOCON.2006.09.008.

26. Kullberg P., Toivonen T., Pouzols FM., Lehtomäki J., Di Minin E., Moilanen A. Complementarity and Area-Efficiency in the Prioritization of the Global Protected Area Network, *PLoS One*, **2015**, *10*, e0145231. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0145231.

27. Whitehead AL., Kujala H., Ives CD., Gordon A., Lentini PE., Wintle BA. et al. Integrating Biological and Social Values When Prioritizing Places for Biodiversity Conservation, *Conserv Biol*., **2014**, *28*, 992-1003. DOI: 10.1111/cobi.12257.

28. Juffe-bignoli D., Bingham H., Macsharry B., Deguignet M., Lewis E., Kingston N. et al. World database on protected areas, *Choice Rev Online*, **2010**, *47*, 47-2935. DOI: 10.5860/choice.47-2935

29. Secretariat CBD. Global biodiversity framework. 2023 p. https://www.cbd.int/gbf.

30. Cantú-Salazar L., Orme CDL., Rasmussen PC., Blackburn TM., Gaston KJ. The performance of the global protected area system in capturing vertebrate geographic ranges, *Biodivers Conserv*., **2013**, *22*, 1033-1047. DOI: 10.1007/s10531-013-0467-7.

31. González-Maya JF., Víquez-R LR., Belant JL., Ceballos G. Effectiveness of Protected Areas for Representing Species and Populations of Terrestrial Mammals in Costa Rica, *PLoS One*, **2015**, *10*, 1-16. DOI: 10.1371/journal.pone.0124480.

32. Pessoa da Silva F., De Marco Júnior P. The role of protected areas in safeguarding bat diversity in Brazil, *Biodivers Conserv*., **2023**, *32*, 2909-2924. doi: 10.1007/s10531-023-02635-6.

33. Prieto-Torres DA., Nori J., Rojas-Soto OR. Identifying priority conservation areas for birds associated to endangered Neotropical dry forests, *Biol Conserv*., **2018**, *228*, 205-214. DOI: 10.1016/j.biocon.2018.10.025.

34. Asaad I., Lundquist CJ., Erdmann MV., Costello MJ. Ecological criteria to identify areas for biodiversity conservation, *Biol Conserv*., **2017**, *213*, 309-316. DOI: 10.1016/j.biocon.2016.10.007.

35. Nhan HTT, Tinh TK, Hung PV. Current situation of Nature reserved area management in Vietnam. Vietnam National University: Hanoi, **2015**.

36. Vu XD., Csaplovics E., Marrs C., Nguyen TT. Criteria and Indicators to Define Priority Areas for Biodiversity Conservation in Vietnam, *Forests*, **2022**, *13*, 1-20. DOI: 10.3390/f13091341.

37. Thủ tướng Chính phủ. Quyết định số 149/QĐ-TTg ngày 28/02/2022 phê duyệt Chiến lược quốc gia về đa dạng sinh học đến năm 2030, tầm nhìn đến năm 2050.

38. Tran DX., Tran TV., Pearson D., Myint SW., Lowry J., Nguyen TT. Spatiotemporal analysis of forest cover change and associated environmental challenges: a case study in the Central Highlands of Vietnam, *Geocarto Int*. **2022**, *37*, 9277-9297. DOI: 10.1080/10106049.2021.2017013.

39. Brum FT, Graham CH, Costa GC, Hedges SB, Penone C, Radeloff VC, et al. Global priorities for conservation across multiple dimensions of mammalian diversity, *Proc Natl Acad Sci*., **2017**, *114*, 7641-7646. DOI: 10.1073/pnas.1706461114.

40. Cadotte MW., Tucker CM. Difficult decisions: Strategies for conservation prioritization when taxonomic, phylogenetic and functional diversity are not spatially congruent, *Biol Conserv*., **2018**, *225*, 128-133. DOI: 10.1016/J.BIOCON.2018.06.014.

Liên hệ: **Lê Quang Tuấn**
Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam,
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: penguin0343@gmail.com.

SPECIES DIVERSITY AND USES OF FLOWERING PLANTS IN THE NORTH CENTRAL REGION OF VIETNAM

Tran The Bach[1,2*], Do Van Hai[1,2], Bui Hong Quang[1,2], Nguyen Thi Thanh Huong[1,2], Duong Thi Hoan[1], Le Ngoc Han[1], Tran Duc Binh[1], Vu Anh Thuong[1], Nguyen Thu Thuy[1], Vu Ha Phuong[1], Nguyen Thi Kim Trien[3], Bui Thu Ha[4], Ha Minh Tam[5]

[1]Institute of Ecology and Biological Resources, Vietnam Academy of Science and Technology, 18, Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

[2]Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18, Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

[3]Phu Yen University, 01, Nguyen Van Huyen, Tuy Hoa, Phu Yen, Vietnam

[4]Ha Noi National University of Education, 136, Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

[5]Hanoi Pedagogical University 2, Vinh Phuc, Vietnam

Received 10/02/2025; Revised 20/02/2025; Accepted 01/3/2025

Abstract

In this study, we assess the species diversity of the flowering plants distributed in the North Central region of Vietnam based on a large data set. A total of 4467 species of flowering plants (3075 useful plant species, of which 2563 species are medicinal plants) were recorded in the North Central region of Vietnam. Overall development proposals for useful plants of the North Central region of Vietnam were presented. Comparison with other regions of Vietnam has confirmed that the flora of the North Central region is very diverse, with many valuable plant species, especially medicinal plants in large quantities.

Keywords: Flowering plants, North Central region, composition, uses, Vietnam.

1. INTRODUCTION

The North Central region includes 6 provinces: Thanh Hoa, Nghe An, Ha Tinh, Quang Binh, Quang Tri, Thua Thien Hue, where there are many national parks and the nature reserves. The number of flowering plants, useful plants, and medicinal plants in Vietnam has been evaluated and statistically recorded in many works. However, a significant data for the North Central region of Vietnam has not been built, thereby lacking an overall view of each region on plant research and development. To obtain such data, surveys, works on diversity, classification, etc. need to be collected over a long period of time with the support of information technology in data processing. This study was conducted to obtain data, analyze them effectively to orient plant development for the North Central region of Vietnam.

Objectives: To assess the diversity of composition and uses of flowering plant species distributed the North Central region of Vietnam based on a large data set and propose overall development for species.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Plant material

Specimens of the flowering plant species distributed in the North Central region of Vietnam.

2.2. Research methods

- Collect documents on the flowering plants of the North Central region of Vietnam.

- Survey the flora of 6 provinces (Thanh Hoa, Nghe An, Ha Tinh, Quang Binh, Quang Tri, Thua Thien Hue) in the North Central region of Vietnam from 2007-2024.

- Use the comparative morphology method to identify species.

- Scientific names have been corrected based on T. B. Nguyen (ed.) et al. (2003, 2005) [21, 22], http://www.plantsoftheworldonline.org.[10]

- Apply Microsoft Access to manage and analyze data of the North Central region.

- Compile a list of flowering plant species distributed in the North Central region of Vietnam, along with information on their use values.

- Link comprehensive data on plant resources and related organizations and companies that can support development. Propose the overall development for useful flowering plants.

- Use Microsoft Access to build a list of plants in other regions of Vietnam based on documents related to those regions, then compare it with the North Central region.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. The diversity of composition and uses of flowering plant species distributed in the North Central region of Vietnam

4467 species (3075 useful plant species, of which 2563 species are medicinal plants) in the North Central region of Vietnam were recorded in this study.

3.2. Overall development proposals for useful plants

The results shown in Figure 1 can be understood as follows:

- The development of the timber can be helped by the construction companies and the forestry companies.

- The development of the ornamental plants can be helped by the construction companies and the ornamental plant companies.

- The development of the edible plants can be helped by the food companies and the pharmaceutical companies.

- The development of the plants that provide essential oils can be helped by the pharmaceutical companies.

- The development of the plants that provide food for animal can be helped by the agricultural companies.

- The development of the dye plants can be helped by the companies of fashion and clothes.

- The development of the plants that provide fibre can be helped by the fashion and clothes companies.

- The development of the medicinal plants can be helped by the pharmaceutical companies.

- The development of the bioactivity plants can be helped by the pharmaceutical companies.

- The development of the plants with other uses can be helped by the related organizations.

- The conservation and development of the endemic, threatened species can be helped by the organizations involved in conservation.

Thus, the development of useful plants can be helped by many companies, which is a great resource to support sustainable development. In order to achieve this, there must be a "team" with expertise, above data and the ability to connect with the organizations.

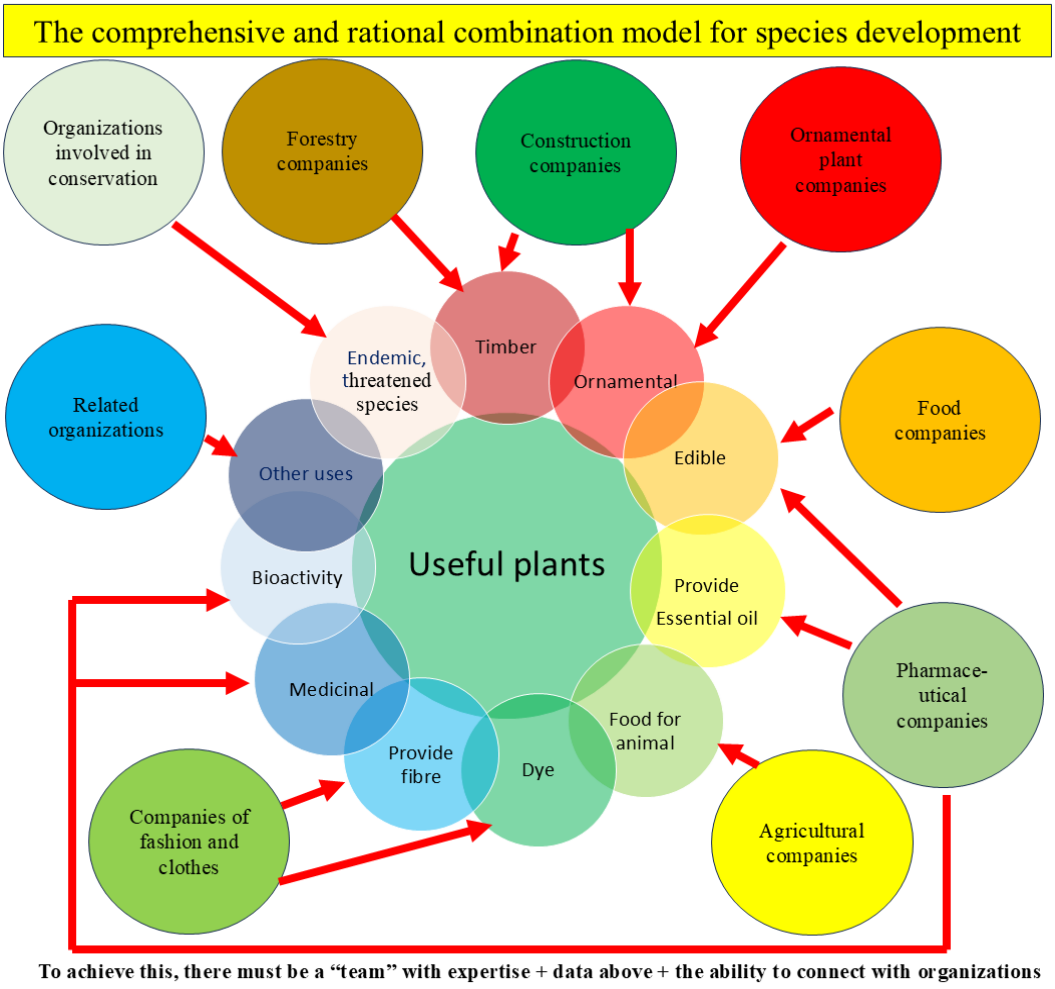


Figure 1. The comprehensive and rational combination model for species development

3.3. Proposing a general model for the comprehensive development of useful plant species in the North Central region of Vietnam

Applying the general model presented in Figure 1, we build a specific model for useful plants in the North Central region.

The results shown in Figure 2 can be understood as follows:

- The development of 438 timber species can be helped by construction companies and the forestry companies.

- The development of 334 ornamental plant species can be helped by the construction companies and the ornamental plant companies.

- The development of 462 edible plant species can be helped by the food companies and the pharmaceutical companies.

- The development of 40 plant species that provide essential oils can be helped by the pharmaceutical companies.

- The development of 121 plant species that provide the food for animal can be helped by the agricultural companies.

- The development of 83 dye plant species can be helped by the companies of fashion and clothes.

- The development of 27 plant species that provide fibre can be helped by the companies of fashion and clothes.

- The development of 2563 medicinal plant species can be helped by pharmaceutical companies.

- The development of 348 bioactivity plant species can be helped by pharmaceutical companies.

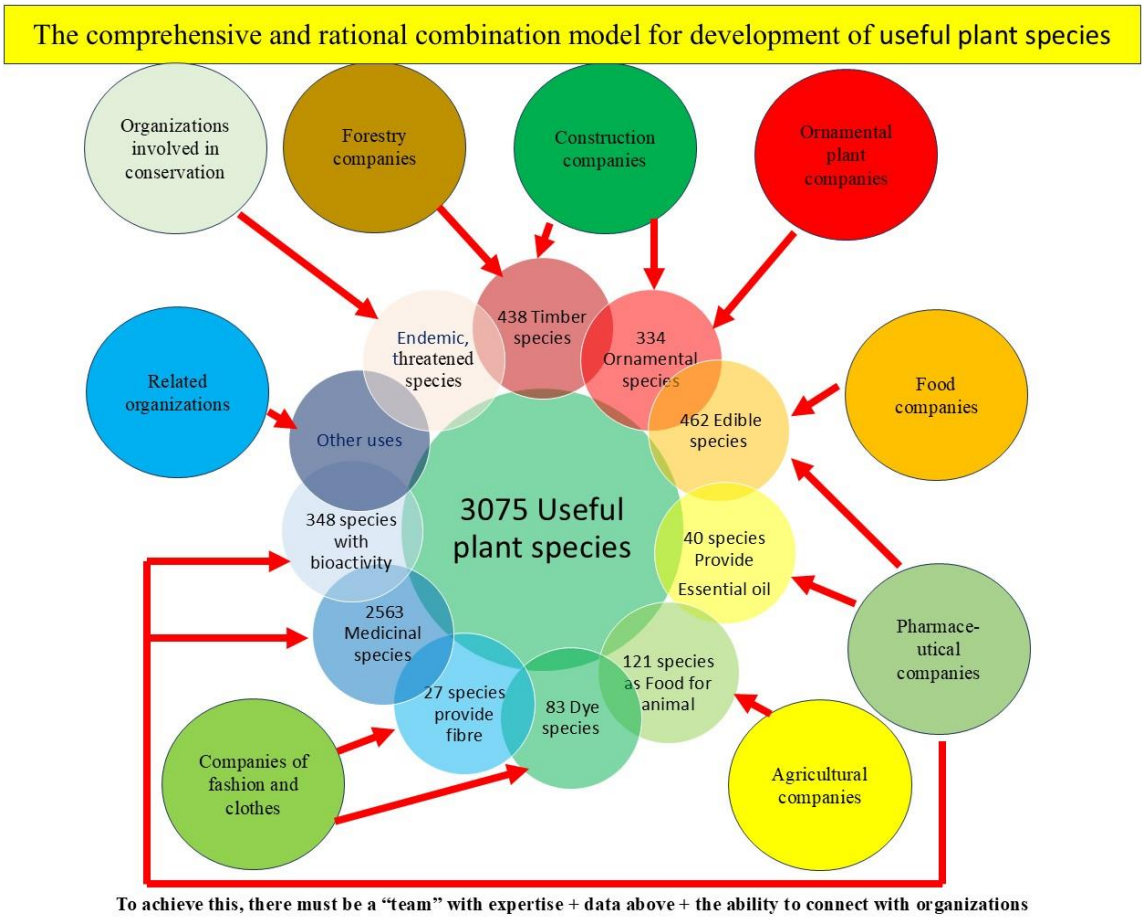


Figure 2. The comprehensive and rational combination model for development of the useful plant species in the North Central region of Vietnam

- The development of the plants with other uses can be helped by the related organizations.

- The conservation and development of the endemic, threatened species can be helped by the organizations involved in conservation.

Thus, the development of 3075 useful plant species can be helped by many companies, which is a great resource to support sustainable development. To achieve this, we want to reiterate that: there must be a "team" with expertise, above data and the ability to connect with the organizations.

Apply the general model presented in Figure 1, we build a specific model for medicinal plants in the North Central region.

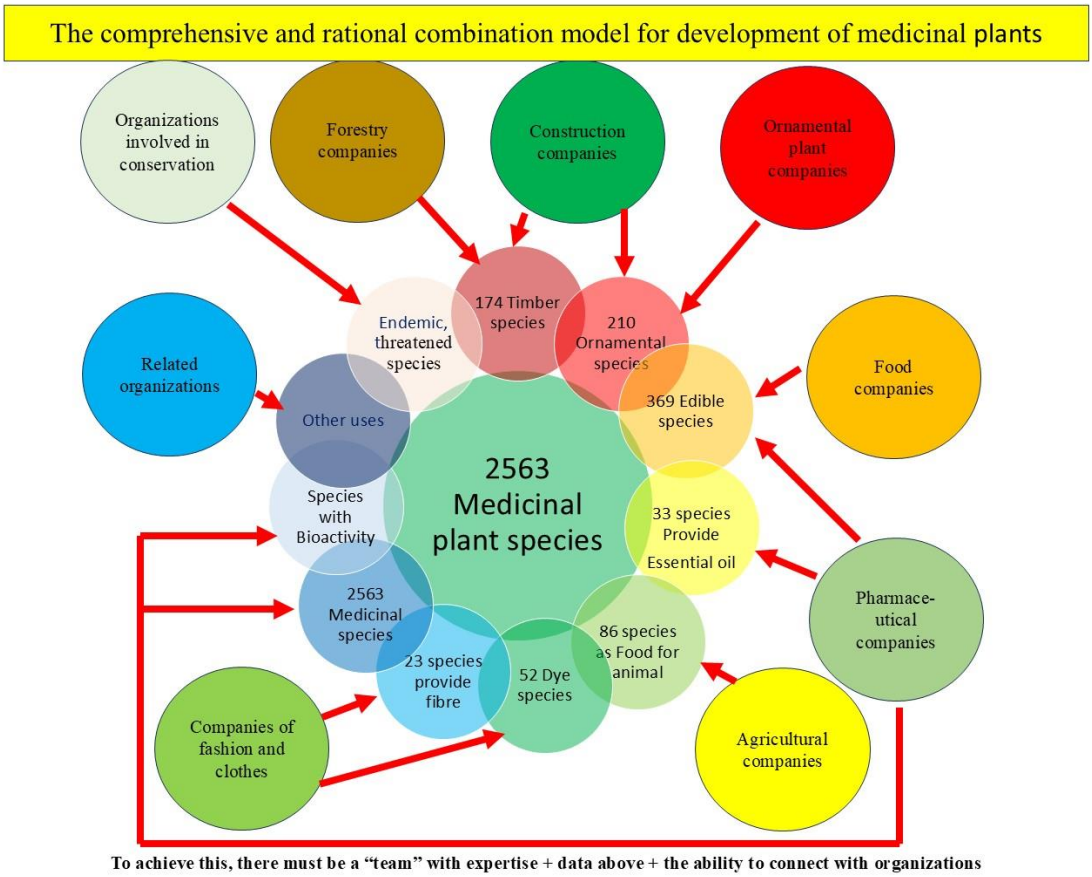


Figure 3. The comprehensive and rational combination model for development of medicinal plant species in the North Central region of Vietnam

The results shown in figure 3 can be understood as follows:

- Of the 2563 medicinal plant species, 174 species are not only medicinal plants, but also timber plants. So, the development of these 174 species can be supported by the companies: the forestry companies, the construction companies and the pharmaceutical companies.

- Of the 2563 medicinal plant species, 210 species are not only medicinal plants, but also ornamental plants. So, the development of these 210 species can be supported by the companies: the construction companies, the ornamental plant companies and the pharmaceutical companies.

- Of the 2563 medicinal plant species, 369 species are not only medicinal plants, but also edible plants. So the development of these 369 species can be supported by the companies: the food companies and the pharmaceutical companies.

- Of the 2563 medicinal plant species, 33 species are not only medicinal plants, but also providing essential oil. So, the development of these 33 species can be supported by the pharmaceutical companies.

- Of the 2563 medicinal plant species, 86 species are not only medicinal plants, but also providing food for animals. So, the development of these 86 species can be supported by agricultural companies and the pharmaceutical companies.

- Of the 2563 medicinal plant species, 52 species are not only medicinal plants, but also dye plants. So, the development of these 52 species can be supported by the companies of fashion and clothes and the pharmaceutical companies.

- Of the 2563 medicinal plant species, 52 species are not only medicinal plants, but also dye plants. So the development of these 52 species can be supported by the companies of fashion and clothes and the pharmaceutical companies.

- Of the 2563 medicinal plant species, 23 species are not only medicinal plants, but also fibre plants. So, the development of these 23 species can be supported by the companies of fashion and clothes and the pharmaceutical companies.

- The development of bioactivity plant species can be helped by the pharmaceutical companies.

- The development of the plants with other uses can be helped by the related organizations and the pharmaceutical companies.

- The conservation and development of the endemic, threatened species can be helped by the organizations involved in conservation and the pharmaceutical companies.

Thus, the development of 2563 medicinal plant species can be helped by many companies (the pharmaceutical companies, the agricultural companies, the companies of fashion and clothes, the organizations involved in conservation, the forestry companies, the construction companies and the related companies to other uses) which are great resources to support sustainable development.

To achieve this, we want to reiterate that: there must be a "team" with expertise, above data and the ability to connect with the organizations.

- Of the 2563 medicinal plant species, 55 species are used to treat asthma, 3 species are used to treat brain hemorrhage, 67 species are used to treat bronchitis, 138 species are used to treat burned, 16 species are used to treat cirrhosis, 66 species are used for detoxify, 30 species are used to treat diabetes, 100 species are used for diuretic, 232 species are used to treat dysentery, 8 species are used to treat encephalitis, 41 species are used to treat eyesore, 39 species are used to treat eyesore, 21 species are used to treat fracture, 22 species are used for galactopoietic, 25 species are used to treat gastritis, 42 species are used to treat gonorrhoea, 41 species are used to treat haemorrhoids, 157 species are used to treat headache, 57 species are used to treat the heart and blood pressure diseases, 53 species are used for hemostatic, 107 species are used to treat hepatitis, 161 species are used to treat the hurt fall, 90 species are used to treat the inflammatory bowel, 46 species are used to treat the irregular menstruation, 5 species are used to treat keratitis, 28 species are used to the treat kidney stone, 90 species are used to treat malaria, 73 species are used to treat measles, 7 species are used to treat mump, 60 species are used to treat nephritis, 3 species are used to treat obese, 55 species are used to treat oedema, 17 species are used to treat otitis, 13 species are used to treat paralytic, 41 species are used to treat pertussis, 226 species are used to treat pimple, 34 species are used to treat pneumonia, 310 species are used to treat rheumatism, 19 species are used to treat scrofulous, 7 species are used to treat sinusitis, 309 species are used to treat the snack bite, 52 species are used to treat the sore throat, 16 species are used to treat sterile, 12 species are used to treat syphilis, 61 species are used to treat toothache, 14 species are used for tranquillizer, 16 species are used to treat urolithiasis, 60 species are used to treat vaginitis.

Building specific lists of medicinal plants to treat different specific diseases will help the development of medicinal plants have appropriate orientation. We can also apply the general model presented in Figure 1 to build a specific model for plants with uses for treatment of specific diseases.

Discussion: If the models are successfully applied, the conservation and development of plant species will be supported by the combination of resources from many companies.

In order to use useful plants correctly, they must first be correctly identified with their scientific names. Therefore, one of the important foundations for plant development is the application of plant taxonomy.

3.4. Comparison with other terrestrial ecoregions of Vietnam based on published literature

The collection of documents related to flowering plants of Vietnam in this study showed the following results:

- 1938 species (1433 species of useful plants, of which 1237 species are medicinal plants) in the Northwest region of Vietnam;[1-14, 16-38]

- 4889 species (3297 useful plant species, of which 2857 species are medicinal plants) in the Northeast region of Vietnam;[1-14, 16-38]

- 3953 species (2901 useful plant species, of which 2518 species are medicinal plants) in the Red River Delta region of Vietnam;[1-14, 16-38]

- 4467 species (3075 useful plant species, of which 2563 species are medicinal plants) in the North Central region of Vietnam;[1-38]

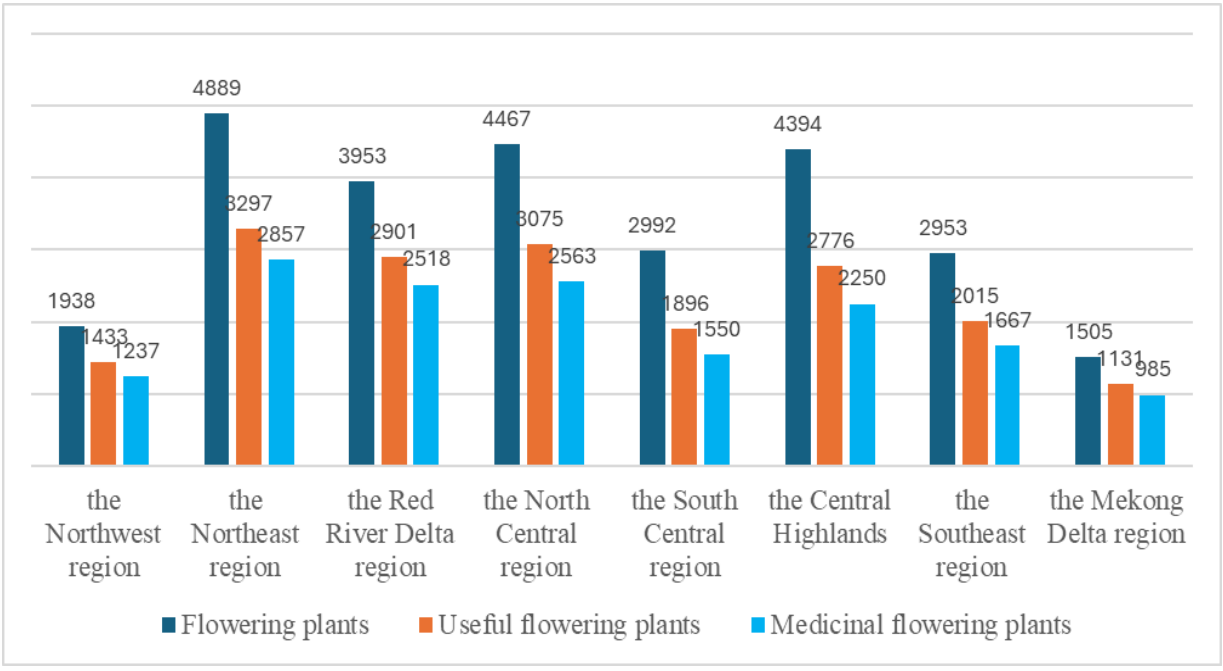


Chart 1. Comparison of flowering plants in eight terrestrial ecoregions[1-38]

- 2992 species (1896 useful plant species, of which 1550 species are medicinal plants) in the South Central region of Vietnam;[1-14, 16-38]

- 4394 species (2776 useful plant species, of which 2250 species are medicinal plants) in the Central Highlands of Vietnam;[1-14, 16-38]

- 2953 species (2015 useful plant species, of which 1667 species are medicinal plants) in the Southeast region of Vietnam;[1-14, 16-38]

- 1505 species (1131 useful plant species, of which 985 species medicinal plants) in the Mekong Delta region of Vietnam.[1-14, 16-38]

Based on the data, the number of species, the number of useful species and the number of medicinal species, the region ranked second after the Northeast region, but more than the 6 remaining regions. Although the flora of the regions needs further study and investigation, the data we have collected so far has confirmed that the flora of the North Central region is very diverse, with many useful plant species, especially medicinal plants, in large numbers.

4. CONCLUSIONS

- In this study, we recorded 4467 species of flowering plants in the North Central region of Vietnam, including 3075 useful plant species and of which 2563 species are medicinal plants.

- The report assessed the diversity of composition and uses of flowering plant species distributed in the North Central region of Vietnam based on a large data set and proposed general development orientations for the species.

- Comparison with other terrestrial ecoregions of Vietnam has confirmed that the flora of the North Central region is very diverse, with many valuable plant species, especially medicinal plants in large quantities.

Acknowledgments. This research is funded by the projects NVCC09.07/25-25.

REFERENCES

1. A. Aubréville (redacteur). Flore du Cambodge, du Laos et du Vietnam 1-10, Paris, **1960-1969**.
2. A. Aubréville, J. F. Leroy (redacteurs). Flore du Cambodge, du Laos et du Vietnam 11-19, Paris, **1970-1981**.
3. D. H. Duong. *Dendrobium* Sw. (Orchidaceae Juss.), Flora of Vietnam 9, Science and Technics Publishing House, Hanoi, **2007**.
4. D. J. Middleton, Apocynaceae, subfamilies *Rauvolfioideae* and *Apocynoideae*, Flora of Cambodia, Laos and Vietnam 33, Royal Botanic Gardens Edinburgh, **2014**.
5. D. L. Tran, Apocynaceae Juss., Flora of Vietnam 5, Science and Technics Publishing House, Hanoi, **2007**.
6. G. Staples. Convolvulaceae, Flore du Cambodge, du Laos et du Vietnam 26, Royal Botanic Garden Edinburgh, **2018**.
7. H. H. Nguyen. Theaceae D. Don., Flora of Vietnam 19, Publishing House for Science and Technology, Hanoi, **2017**.
8. H. Lecomte (redacteur), Flore générale de l' Indo-Chine 1-7, Paris, **1907-1952**.
9. http://www.eFloras.org. Accessed on 6 February 2025.
10. http://www.plantsoftheworldonline.org. Accessed on 6 February 2025.
11. K. B. Le. Asteraceae Dumort., Flora of Vietnam 7, Science and Technics Publishing House, Hanoi, **2007**.
12. K. D. Nguyen. Lauraceae Juss., Flora of Vietnam 20, Publishing House for Science and Technology, Hanoi, **2017**.
13. K. K. Nguyen. Cyperaceae Juss., Flora of Vietnam 3, Science and Technics Publishing House, Hanoi, **2002**.

14. M. T. Ha. Sapindaceae Juss., Flora of Vietnam 12, Publishing House for Science and Technology, Hanoi, **2017**.
15. N. D. Do (ed.), T. H. Le, D. H. Nguyen, T. C., N. S. Ly, T. M. C. Dao, H. B. Pham, K. L. Nguyen, A. D. Nguyen. Checklist of Vascular Plants in Western Nghe An Biosphere Reserve, Publishing House for Science and Technology, Hanoi, **2022**.
16. N. T. Nguyen. Taxonomy of Euphorbiaceae in Vietnam, Hanoi National University Publishing House, Hanoi, **2007**.
17. National Institute of Medicinal Materials, List of Vietnamese medicinal plants, Medical Publishing House, Hanoi, **2016**.
18. Ph. Morat (ed.). Flore du Cambodge, du Laos et du Vietnam 23-32, Paris, **1987-2003**.
19. Q. B. Nguyen. Zingiberaceae Lindl., Flora of Vietnam 21, Publishing House for Science and Technology, Hanoi, **2017**.
20. S. Hul, P. D. Phon. Solanaceae, Flore du Cambodge, du Laos et du Vietnam 35, Royal Botanic Garden Edinburgh, **2014**.
21. T. B. Nguyen (ed.) et al. Checklist of Plants in Vietnam 2, Agricultural Publishing House, Hanoi, **2003**.
22. T. B. Nguyen (ed.) et al. Checklist of Plants in Vietnam 3, Agricultural Publishing House, Hanoi, **2005**.
23. T. B. Nguyen. Annonaceae Juss., Flora of Vietnam 1, Science and Technics Publishing House, Hanoi, **2000**.
24. T. B. Tran, Asclepiadaceae R. Br. Flora of Vietnam 15, Publishing House for Science and Technology, Ha Noi, **2017**.
25. T. D. Nguyen, Liliales Perleb. Flora of Vietnam 8, Science and Technics Publishing House, Hanoi, **2008**.
26. T. D. Nguyen, Polygonaceae Juss.. Flora of Vietnam 11, Science and Technics Publishing House, Hanoi, **2007**, 121-247.
27. T. K. L. Tran, Myrsinaceae R. Br. Flora of Vietnam 4, Science and Technics Publishing House, Hanoi, **2002**.
28. T. P. A. Tran, Arecaceae Schultz-Sch. Flora of Vietnam 13, Publishing House for Science and Technology, **2017**.
29. T. X. Do. Malvaceae Juss. Flora of Vietnam 14, Publishing House for Science and Technology, Hanoi, **2017**.
30. V. C. Vo. Dictionary of Vietnamese medicinal plants, Medical Publishing House, **2018**.
31. V. C. Vo, H. Tran. Useful plants in Vietnam, Publishing House of Education, **1999**.
32. V. D. Nguyen. Araceae Juss., Flora of Vietnam 16, Publishing House for Science and Technology, Hanoi, **2017**.
33. V. H. Vu. Solanaceae Juss.. Flora of Vietnam 17, Publishing House for Science and Technology, Hanoi, **2017**, 1-218.
34. V. H. Vu, X. P. Vu. Loganiaceae R. Br. ex Mart., Flora of Vietnam 17, Publishing House for Science and Technology, Hanoi, **2017**, 219-324.
35. www.tropicos.org. Accessed on 6 February 2025.

36. X. P. Vu. Gesneriaceae Dumort., Flora of Vietnam 18, Publishing House for Science and Technology, Hanoi, **2017**.

37. X. P. Vu. Lamiaceae Lindl., Flora of Vietnam 2, Science and Technics Publishing House, Hanoi, **2000**.

38. X. P. Vu. Verbenaceae Jaume, Flora of Vietnam 6, Science and Technics Publishing House, Hanoi, **2007**.

Corresponding author: **Tran The Bach**
Institute of Ecology and Biological Resources
Vietnam Academy of Science and Technology
18, Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam
Email: tranthebach.botany@gmail.com.

NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP CÁC HỢP CHẤT THỨ CẤP TỪ CHỦNG XẠ KHUẨN *Streptomyces spriroverticillatus, Streptomyces cyaneus, Streptomyces* VTCC43168 VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG CHỦNG *Mycobacterium smegmatis*, KHÁNG VIÊM CỦA CÁC CHỦNG NÀY

Huỳnh Thị Ngọc Ni[1,2], Nguyễn Thị Lưu[3], Trần Văn Chiến[3], Trần Văn Sung[1,3], Nguyễn Kim Nữ Thảo[4], Jin-hua Cheng, Joo Won Suh[5], Trần Thị Phương Thảo[1,3*]

[1]Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

[2]Trường Đại học Hà Tĩnh, Cẩm Vĩnh, Cẩm Xuyên, Hà Tĩnh, Việt Nam

[3]Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

[4]Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, 334, Nguyễn Trãi, Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

[5]Trung tâm Nghiên cứu hiệu quả Sinh học, Trường Đại học Myongji, 116, Myeongji-ro, Cheoin-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do, Hàn Quốc

Ngày gửi bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

Ba chủng xạ khuẩn *S. spiroverticillatus* VH19-A067, *S. cyaneus* VTCC43860 và *Streptomyces* sp. VTCC43168 đã được phân lập và định danh từ các mẫu đất thu thập tại các vùng miền khác nhau ở Việt Nam. Dịch nuôi cấy của các chủng xạ khuẩn này được đánh giá hoạt tính kháng chủng tương đồng với chủng lao *M. smegmatis*. Kết quả cho thấy trong ba chủng trên, chủng xạ khuẩn *S. spiroverticillatus* VH19-A067 thể hiện hoạt tính kháng *M. smegmatis* tiềm năng với đường kính vòng kháng khuẩn là 9 mm. Từ ba chủng xạ khuẩn nghiên cứu, ba hợp chất thứ cấp là *6Z*-15-methyl-6-hexadecenoic acid (chất **1**), 7-acetyl-3,6-dihydroxy-8-methyl tetralone (chất **2**) và valine (chất **3**) đã được phân lập và xác định cấu trúc. Đây là lần đầu tiên các hợp chất này được phân lập từ các chủng xạ khuẩn trên. Hai hợp chất **1** và **2** được đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW264.7 kích hoạt bởi LPS. Kết quả cho thấy chất **1** thể hiện hoạt tính kháng viêm với giá trị IC_{50} 53,3 µM.

Từ khóa: Xạ khuẩn, *Streptomyces*, *Mycobacterium smegmatis*, hoạt tính kháng lao, hoạt tính kháng viêm.

1. MỞ ĐẦU

Bệnh lao là một bệnh truyền nhiễm do vi khuẩn lao *Mycobacterium tuberculosis* gây ra. Theo Tổ chức Y tế thế giới (WHO), bệnh lao là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây tử vong ở người trên toàn thế giới. Năm 2023, thế giới có khoảng 1,25 triệu ca tử vong và 8.2 triệu ca nhiễm lao mới, trong đó gần 400,000 người mắc bệnh lao đa kháng thuốc[1]. Việt Nam là một trong 30 nước có gánh nặng bệnh lao cao nhất trên thế giới, với khoảng 174,000 ca mắc mới và 11,000 ca tử vong mỗi năm[2]. Năm 2023, cả nước có 106.086 trường hợp mắc lao các thể được phát hiện, tăng so với cùng kỳ năm 2021 và 2022 lần lượt là 34,4% và 2,2%. Số bệnh nhân mắc lao đa kháng thuốc năm 2023 ghi nhận là 3.775 người, cao hơn các năm 2020, 2021, 2022 lần lượt là 7,8%, 45,8% và 9,5%.[2] Bệnh lao đa kháng thuốc được xem là mối đe dọa nghiêm trọng đến sức khỏe cộng đồng ở các nước.[3] Vì vậy, việc tìm kiếm các hợp chất kháng lao mới để điều trị bệnh là vấn đề rất cần thiết và có tính cấp bách không chỉ ở Việt Nam mà trên toàn thế giới.

Xạ khuẩn (Actinomycete) từ lâu đã được biết đến là nguồn vi sinh vật cung cấp các hợp chất kháng sinh đã được sử dụng làm thuốc.[4] *Streptomyces* là chi xạ khuẩn lớn nhất của ngành xạ khuẩn Actinobacteria.[5] Giống như hầu hết các xạ khuẩn khác, *Streptomyces* là vi khuẩn hiếu khí Gram (+), có cấu tạo dạng sợi, phân nhánh. Các loại thuốc kháng lao hiện đang được sử dụng đều có nguồn gốc từ xạ khuẩn thuộc chi *Streptomyces* như streptomycine (phân lập từ chủng *S. griceus*), kanamycin (phân lập tử chủng *S. kanamycetius*),[6] azomycin (phân lập từ chủng xạ khuẩn *S. eurocidicus*),[7,8] rifamycin **(**phân lập từ chủng xạ khuẩn *S. mediterraneus*),[9] cyclomarin A (phân lập từ xạ khuẩn biển *Streptomyces* spp. CNB-982),[10] rufomycin (phân lập từ xạ khuẩn *S. atratus* MJM3502).[11]

Xạ khuẩn *Streptomyces spiroverticillatus* lần đầu được phân lập trong môi trường đất ở Nhật Bản năm 1955.[12] *S. spiroverticillatus* có dạng hình sợi, khuẩn ty khí sinh dài, màu trắng, khuẩn ty cơ chất không phân nhánh. Tautomycin là một hợp chất được phân lập từ chủng xạ khuẩn này.[13] Hợp chất này thể hiện hoạt tính kháng nấm *Sclerotinia sclerotiorum*, ức chế protein-serinelthreonine phosphatase (PP) type 1 và 2A[14] và ức chế sự phát triển của tế bào ung thư tuyến giáp thông qua ức chế enzyme glycogen synthase kinase-3β (GSK-3β).[15] Ngoài ra, từ chủng xạ khuẩn này, verticilactam - một hợp chất thuộc khung macrolactam cũng đã được phân lập. Hợp chất này thể hiện hoạt tính kháng khuẩn *Escherichia coli* HO-141, kháng nấm *Magnaporthe oryzae*, gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư bạch cầu HL-60 ở người và hoạt tính kháng ký sinh trùng sốt rét *Plasmodium falciparum* 3D7.[16,17] *Streptomyces cyaneus* là chủng xạ khuẩn có hình sợi, chuỗi bào tử có hình xoắn ốc, bào tử có màu xám hoặc đỏ, bề mặt bào tử nhẵn.[18] Từ dịch nuôi cấy của chủng xạ khuẩn *S. cyaneus*, các hợp chất khung anthracycline gồm ditrisarubicin A, ditrisarubicin B và ditrisarubicin C đã được phân lập.[19] Các hợp chất này đều thể hiện hoạt tính ức chế sự phát triển của vi khuẩn Gr (+), hoạt tính gây độc tế bào trên dòng tế bào bạch cầu L-1210 và ức chế tổng hợp RNA.[19] Hai hợp chất là AH-1763 và AH-1763 Ia thuộc khung pluramycin cũng đã được phân lập từ chủng xạ khuẩn này.[18] Trong đó, hợp chất AH-1763 thể hiện hoạt tính ức chế sự phát triển của virus herpes và hoạt tính kháng khuẩn tương đương thuốc kháng sinh neopluramin, hydramycin và saptomycin.[18]

Việt Nam được biết đến là một trong những nước có đa dạng sinh học lớn nhất thế giới. Điều kiện khí hậu, thổ nhưỡng đa dạng ở các vùng miền khác nhau ở Việt Nam tạo ra các chủng xạ khuẩn khác nhau, phong phú và đa dạng. Chúng chính là nguồn thiên nhiên quý giá để nghiên cứu, tìm kiếm các hợp chất kháng lao mới, góp phần phục vụ cho việc điều trị bệnh lao đa kháng thuốc hiện nay. Tuy nhiên, cho đến nay có rất ít các công trình công bố việc tìm kiếm các chủng xạ khuẩn và các hợp chất thứ cấp có hoạt tính kháng lao ở Việt Nam.[20-23] Trong quá trình tìm kiếm các chủng xạ khuẩn có hoạt tính kháng lao từ các vùng miền khác nhau ở Việt Nam, ba chủng xạ khuẩn *S. spriroverticillatus* VH19-A067, *S. cyaneus* VTCC43860 và *Streptomyce*s VTCC43168 đã được chúng tôi tiến hành sàng lọc trên chủng vi khuẩn tương đồng với vi khuẩn lao *Mycobacterium smegmatis*. *M. smegmatis* gần đây đã được các nhà khoa học trên thế giới dùng thay thế cho chủng vi khuẩn lao *Mycobacterium tuberculosis* để sàng lọc các hợp chất kháng lao do có tính an toàn, không gây bệnh và thân thiện với môi trường.[24-26] Không giống như chủng *M. tuberculosis*, *M. smegmatis* có thời gian nuôi cấy nhanh trong phòng thí nghiệm, không sống trên động vật có vú nên không gây bệnh ở người.[24-26] Đáng chú ý, *M. smegmatis* có hơn 2000 gen tương đồng với *M. tuberculosis.*[24, 25] Do đó, *M. smegmatis* đã được sử dụng rộng rãi để thử nghiệm hoạt tính kháng lao mà không cần đến phòng thí nghiệm an toàn tiêu chuẩn cao như đối với vi khuẩn lao.[27,28] Kết quả sàng lọc hoạt tính kháng chủng *M. smegmatis* của ba chủng xạ khuẩn trên cho thấy chủng *S. spriroverticillatus* VH19-A067 thể hiện hoạt tính kháng chủng *M. smegmatis* tốt với đường kính kháng khuẩn 9 mm. Hai chủng xạ khuẩn *S. cyaneus* VTCC43860 *và Streptomyce*s VTCC43168 không thể hiện hoạt tính. Từ ba chủng xạ khuẩn trên, ba hợp chất gồm (*6Z)*-15-methyl-6-hexadecenoic acid (**1**) (phân lập từ chủng xạ khuẩn *S. spiroverticillatus* VH19-

A067), 7-acetyl-3,6-dihydroxy-8-methyl tetralone (**2**) (phân lập từ chủng xạ khuẩn *S. cyaneus* VTCC43860) và valin (**3**) (phân lập từ chủng xạ khuẩn *Streptomyces* VTCC43168) đã được phân lập và xác định cấu trúc. Đây là lần đầu tiên các hợp chất trên được phân lập từ các chủng xạ khuẩn nghiên cứu. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO của hai hợp chất **1** và **2** cho thấy hợp chất **1** thể hiện hoạt tính ở mức độ trung bình với giá trị IC_{50} là 53,3 µM. Chất đối chứng L-NMMA (L-N^G-monomethyl arginine acetate) có giá trị IC_{50} 16,45 µM.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất và thiết bị

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1D- và 2D-NMR được ghi trên máy Bruker Avance 500MHz và 600 MHz với TMS làm chất nội chuẩn cho ^1H và tín hiệu dung môi làm chuẩn cho ^{13}C-NMR. Phổ khối ESI-MS được đo trên máy Agilent LC-MSD-Trap SL. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS được đo trên máy FT-ICR-MS Varian (USA). Sắc ký bản mỏng (TLC) và sắc ký lớp mỏng điều chế được thực hiện trên bản mỏng silica gel Merck 60 F_{254}. Sắc ký cột sử dụng silical gel (Merck, cỡ hạt 0,04-0,063 mm và 0,063-0,200 mm), diaion HP-20 và sephadex LH-20 (Aldrich). Phát hiện vệt chất trên lớp mỏng bằng đèn tử ngoại (UV λ 254 nm) và thuốc thử vanilin/H_2SO_4 đặc.

2.2. Thu thập mẫu chủng xạ khuẩn

Chủng xạ khuẩn *S. spiroverticillatus* VH19-A067 được phân lập từ mẫu đất thu tại ngã ba Sông Đáy và Sông Vạc, xã Thường Kiệm, huyện Kim Sơn, tỉnh Ninh Bình. Chủng xạ khuẩn *S. cyaneus* VTCC43860 được phân lập từ mẫu đất thu tại Rừng Quốc gia Bạch Mã, tỉnh Thừa Thiên Huế và *Streptomyces* sp. VTCC43168 được phân lập từ mẫu đất thu tại Sapa, Lào Cai, Việt Nam. Các mẫu đất được đựng riêng lẻ trong ống falcon 50 mL, khử trùng và bảo quản lạnh trong suốt thời gian vận chuyển về phòng thí nghiệm cho tới khi sử dụng. Các chủng xạ khuẩn được phân lập sạch, định danh và được cung cấp bởi Bảo tàng Giống chuẩn Vi sinh vật (VTCC), Viện Vi sinh vật và Công nghệ Sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội.

2.3. Phương pháp phân lập và định danh chủng xạ khuẩn

Mẫu đất chứa xạ khuẩn được sấy khô, nghiền thành bột và pha loãng đến nồng độ 10^{-3}, 10^{-4} trong nước cất đã vô trùng, sau đó trải lên đĩa Petri chứa môi trường HV (Axit humic 1g, $CaCO_3$ 0,02 g, $FeSO_4.7H_2O$ 0,01 g, KCl 1,7 g, $MgSO_4.7H_2O$ 0,05 g, Na_2HPO_4 0,5 g, vitamin nhóm B 5 mL, Agar 16 g, nước cất 1 L, pH 7), acid nalidixic (20 mg/L). Bổ sung acid nalidixic 20 mg/L và cycloheximide 50 mg/L vào môi trường. Đĩa phân lập được ủ ở 28-30 °C trong 14 đến 21 ngày. Khuẩn lạc được ria lên môi trường YS (Cao nấm men 2 g, tinh bột 10 g, nước cất 1 L) và giữ lạnh sâu ở -80 °C.[29]

Phân loại chủng xạ khuẩn được xác định dựa trên đặc điểm hình thái bào tử của khuẩn lạc, kết hợp với giải trình tự gen *16S rRNA*. Cặp mồi 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3) và 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3) được sử dụng để khuếch đại gen 16S rRNA trong phương pháp PCR. Công cụ EZ Taxon được sử dụng để phát hiện trình tự của đoạn *16S rRNA*.[21]

2.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng vi khuẩn tương đồng vi khuẩn lao *Mycobacterium smegmatis*

Các chủng xạ khuẩn được nuôi trên môi trường thạch YS trong 7 ngày ở 30°C. Chủng vi khuẩn *M. smegmatis* KCTC 9108 được cung cấp bởi Trung tâm Dinh dưỡng và Dược liệu, Đại học Myongji, Hàn Quốc. *M. smegmatis* được nuôi trên môi trường 219 lỏng (g/L: pepton 10, cao nấm men 5, cao malt 5, casamino acid 5, cao thịt bò 2, glycerol 2, tween 80-50 mg, $MgSO_4.7H_2O$ 1) ở 30 °C trong 24 h. Dịch nuôi vi khuẩn được bổ sung vào môi trường 219

thạch đã khử trùng với tỷ lệ 1% và đổ ra đĩa Petri. Các thỏi thạch chứa xạ khuẩn có kích thước 5 mm được đặt lên đĩa. Với các mẫu thử hoạt tính là dịch tách chiết thì tiến hành tạo các lỗ trên đĩa thạch kiểm định bằng ống nhựa và nhỏ 50 µL mẫu vào các lỗ. Ủ đĩa ở 30 °C trong 24 h. Hoạt tính kháng khuẩn được xác định bằng đường kính vòng vô khuẩn trên đĩa thạch[30,31] và được thực hiện tại Viện Vi sinh vật và Công nghệ Sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội. Đối chứng âm là đĩa thạch có chứa chủng *M. smegmatis*. Rufomycin được sử dùng làm chất đối chứng với nồng độ thử nghiệm là 10 µg/mL.

2.5. Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxide (NO)

Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO được thực hiện trên tế bào RAW264.7 và được mô tả trong công trình trước đó của chúng tôi.[21]

2.6. Lên men, tạo dịch sinh khối và phân lập các hợp chất từ dịch nuôi cấy các chủng xạ khuẩn

- Quy trình lên men chủng xạ khuẩn:

Các chủng xạ khuẩn được nuôi cấy trên môi trường thạch trong 5-7 ngày, sau đó được cấy vào bình nón 1000 mL chứa 350 mL môi trường YS, lắc với tốc độ 160 vòng/phút, 28-30 °C, trong 72 h. Dịch xạ khuẩn không tạp nhiễm, có mật độ (25-30)×10^6 tế bào/mL được làm giống gốc cho hệ thống lên men 50 L. Sau quá trình lên men 144 h, dịch nuôi cấy (50 L) được tiến hành ly tâm để tách riêng dịch nước và cặn tế bào.

- Phân lập các hợp chất từ dịch nuôi cấy các chủng xạ khuẩn:

Sau quá trình lên men, dịch nuôi cấy (50 L) xạ khuẩn *Streptomyces spiroverticillatus* VH19-A067 được tiến hành ly tâm 10.000 vòng/phút ở nhiệt độ phòng để tách riêng dịch nước và cặn tế bào. Phần dịch nước (40 L) được chiết với EtOAc (3 × 4h × 20 L) và cất loại dung môi thu được cao chiết EtOAc. Phần cặn tế bào được ngâm chiết trong EtOH/nước theo tỉ lệ 9:1 (3 × 4 h × 1 L), sau đó tiến hành ly tâm 10.000 vòng/phút ở nhiệt độ phòng để loại bỏ cặn. Dịch chiết thu được được tiến hành cất loại dung môi thu được cao chiết cồn. Khảo sát cao chiết EtOAc và cao chiết cồn bằng sắc ký bản mỏng thấy sự giống nhau về thành phần giữa hai cao chiết. Cao chiết EtOAc và cao chiết cồn được gộp lại thu được 10 g cao chiết tổng. Từ 10 g cao chiết tổng (ký hiệu 67CX) được tách bằng sắc ký cột với dianion, hệ dung môi lần lượt là 100% H_2O → H_2O:EtOH (9:1 → 8:2 → 5:5) → 100% EtOH thu được 2 phân đoạn, 67CX1 và 67CX2. Phân đoạn 67CX1 (7 g) được tiến hành chạy sắc ký cột silica gel với hệ dung môi là CH_2Cl_2:MeOH (95:5) thu được 2 phân đoạn, 67CX1.1 và 67CX1.2. Phân đoạn 67CX1.2 (5,2 g) được tinh chế tiếp hai lần bằng cột Sephadex LH-20 với dung môi rửa giải là methanol (100 %) thu được thu được chất sạch **1** (4 mg).

Sinh khối thu được từ xạ khuẩn *Streptomyces cyaneus* VTCC43860 được tiến hành ly tâm để tách riêng dịch nước và cặn tế bào. Phần dịch nước (40 L) được chiết với EtOAc, cất loại dung môi thu được cao chiết EtOAc. Phần cặn tế bào sau khi được ly tâm được chiết với methanol:nước theo tỉ lệ 9:1 (3 × 4 h × 1 L), sau đó tiến hành ly tâm 10.000 vòng/phút ở nhiệt độ phòng để loại bỏ cặn. Dịch chiết thu được được tiến hành cất loại dung môi thu được cao chiết MeOH. Khảo sát cao chiết EtOAc và MeOH bằng sắc ký bản mỏng cho thấy sự giống nhau về thành phần giữa hai cao chiết. Cao chiết EtOAc và MeOH được gộp lại thu được 1,48 g cao chiết tổng (ký hiệu VTCC43860). Cao chiết tổng được tiến hành chạy sắc ký cột silica gel bằng hệ dung môi *n*-hexane:CH_2Cl_2:NH_3 = 7:3:1% với độ phân cực tăng dần thu được 6 phân đoạn T1-T6. Phân tách phân đoạn T5 (22 mg) trên cột sắc ký Sephadex LH-20 với dung môi rửa giải là methanol (100%) thu được 3 phân đoạn (T5.1-T5.3). Phân đoạn T5.2 (9,4 mg)

được tinh chế bằng sắc ký bản mỏng điều chế với hệ dung môi CH_2Cl_2/MeOH/H_2O (9:1:0,1) thu được chất sạch **2** (3 mg).

Sinh khối thu được từ xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VTCC43168 được tiến hành ly tâm, tách riêng phần dịch nước ra khỏi phần cặn tế bào. Phần cặn tế bào sau khi được ly tâm, được chiết với methanol:nước (9:1). Phần dịch chiết được cất loại dung môi, thu được phần cao chiết methanol. Phần dịch nước được chiết với ethyl acetate, sau đó được cô quay để loại dung môi thu được phần cặn còn lại là cao chiết ethyl acetate. Khảo sát cao chiết ethyl acetate và methanol bằng sắc ký bản mỏng cho thấy sự giống nhau giữa hai cao chiết. Hai cao chiết này được gộp lại thu được 17,785 g cao tổng. Cao chiết tổng (ký hiệu168V) được tiến hành chạy sắc ký cột Sephadex LH-20 với dung môi rửa giải là methanol thu được 6 phân đoạn, 168V1 → 168V6. Phân tách phân đoạn 168V3 (8,5 g) trên cột sắc ký silica gel với hệ dung môi CH_2Cl_2/MeOH (95:5 → 7:3) thu được 9 phân đoạn, 168V3.1 → 168V3.9. Tinh chế phân đoạn 168V3.9 (203,6 mg) trên Sephadex LH-20 với dung môi rửa giải là methanol thu được 3 phân đoạn, 168V3.9.1 → 168V3.9.3. Tinh chế phân đoạn 168V3.9.1 (80,9 mg) bằng cột sắc ký silica gel với hệ dung môi CH_2Cl_2/MeOH (9:1 → 7:3) thu được 2 phân đoạn 168V3.9.1.1, 168V3.9.1.2. Phân đoạn 168V3.9.1.1 (12 mg) được tinh chế bằng sắc ký bản mỏng điều chế với hệ dung môi CH_2Cl_2/MeOH/H_2O (85:15:0,1) thu được chất sạch **3** (6,3 mg).

Chất 1 ((*6Z*)-15-methyl-6-hexadecenoic acid): Chất rắn, màu hồng nhạt; $C_{17}H_{32}O_2$; HR-ESI-MS (*m/z):* 267,2335 (tính toán lý thuyết cho $C_{17}H_{31}O_2$ 267,2324 $[M-H]^-$). ^{1}H-NMR (δ_H, *J*, 600 MHz, CD_3OD): 5,36 (2H, m, H-6, H-7), 2,30 (2H, m, H-2), 2,06 (4H, m, H-5, H-8), 1,61 (2H, m, H-3), 1,54 (1H, m, H-15),1,34 (2H, m, H-4), 1,33-1,31 (10H, m, H-9, H-10, H-11, H-12, H-13), 1,20 (2H, m, H-14), 0,91 (6H, m, H-16, H-17); ^{13}C-NMR (δ_C, *J*, 125 MHz, CD_3OD): 177,8 (C-1), 130,8 (C-6, C-7), 40,2 (C-14), 35,0 (C-2), 33,0 (C-9, C-12), 30,7 (C-4), 28,5 (C-10, C-11), 29,1 (C-15), 28,1 (C-5), 26,1 (C-3), 23,7 (C-13), 23,0 (C-16, C-17).

Chất 2 (7-acetyl-3,6-dihydroxy-8-methyl tetralone): Dạng bột, màu trắng; $C_{13}H_{15}O_4$; HR-ESI-MS (*m/z):* 235,0960 (tính toán lý thuyết cho $C_{13}H_{15}O_4$ 235,0970 $[M+H]^+$), 257,0783 (tính toán lý thuyết cho $C_{36}H_{47}NO_5Na$ 257,0790 $[M+Na]^+$), 233,0827 (tính toán lý thuyết cho $C_{36}H_{46}NO_5$ 233,0814 $[M-H]^-$). ^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 500 MHz), δ_H (ppm), *J* (Hz): 6,73 (1H, s, H-5), 4,42 (1H, m, H-3), 3,18 (1H, dd, *J* = 16,5, 4,0 Hz, H-4a), 2,98 (1H, dd, *J* = 16,5, 7,5 Hz, H-4b), 2,95 (1H, dd, *J* = 15,5, 3,0 Hz, H-2a), 2,72 (1H, dd, *J* = 15,5, 3,0 Hz, H-2b), 2.77 (3H, s, H-12), 2,62 (3H, s, H-13). ^{13}C-NMR (δ_C, *J*, 125 MHz, CD_3OD): 207,0 (C-11), 196,3 (C-1), 162,0 (C-6), 147,5 (C-10), 144,9 (C-8), 130,5 (C-7), 125,0 (C-9), 116,2 (C-5), 65,8 (C-3), 49,3 (C-2), 39,7 (C-4), 32,7 (C-13), 22,5 (C-12).

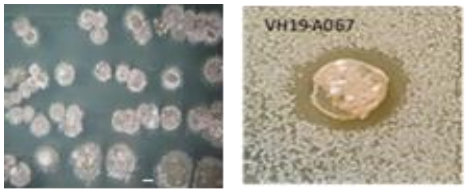
Chất 3 (Valin): Chất rắn, màu trắng; $C_5H_{11}NO_2$; ESI-MS (*m/z):* 115,8 $[M-H]^-$. ^{1}H-NMR (CD_3OD, 500 MHz), δ_H (ppm), *J* (Hz): 3,32-3,40 (1H, m, H-2), 2,27 (1H, m, H-3), 1,08 (3H, d, *J* = 7,0 Hz, H-4), 1,03 (3H, d, *J* = 7,0 Hz, H-5); ^{13}C-NMR (δ_C, *J*, 125 MHz, CD_3OD): 180,3 (C-1), 61,8 (C-2), 31,0 (C-3), 19,3 (C-4), 17,7 (C-5).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hoạt tính kháng chủng *M. smegmatis* của các chủng xạ khuẩn

Các chủng xạ khuẩn nghiên cứu được đánh giá hoạt tính kháng chủng *M. smegmatis* bằng phương pháp đĩa thạch. Kết quả cho thấy, chủng *S. spiroverticillatus* VH19-A067 có hoạt tính kháng *M. smegmatis* tiềm năng với đường kính vòng vô khuẩn là 9 mm. Chất đối

chứng rufomycin có đường kính vòng vô khuẩn là 12 mm. Hai chủng còn lại là *S. cyaneus* VTCC43860 và *Streptomyces* sp. VTCC43168 không thể hiện hoạt tính. Đây là lần đầu tiên hoạt tính kháng chủng *M. smegmatis* của ba chủng xạ khuẩn nghiên cứu được đánh giá hoạt tính kháng vi khuẩn tương đồng vi khuẩn lao *M. smegmatis.*



(a) **(b)**

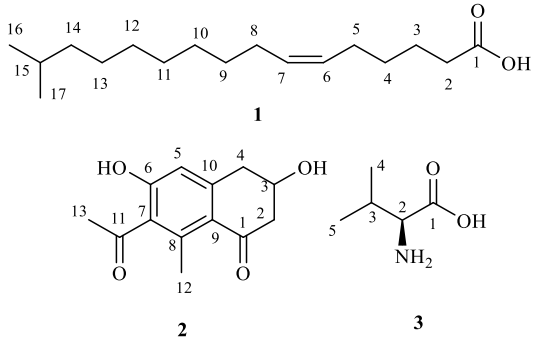
Hình 1. (a) Hình ảnh khuẩn lạc của chủng xạ khuẩn *S. spiroverticillatus* VH19-A067, (b) Khả năng kháng chủng *M. smegmatis* của chủng *S. spiroverticillatus* VH19-A067

3.2. Xác định cấu trúc của các chất sạch phân lập được từ các chủng xạ khuẩn

Hợp chất **1** được phân lập từ dịch sinh khối của chủng xạ khuẩn S. *spiroverticillatus* VH19-A067. Hợp chất này có dạng chất rắn, màu hồng nhạt. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS cho pic ion giả phân tử tại *m/z* 267,2335 (tính toán lý thuyết cho $C_{17}H_{31}O_2$ 267,2324 $[M-H]^-$), cho phép xác định công thức phân tử của **1** là $C_{17}H_{32}O_2$. Trên phổ ^{1}H-NMR xuất hiện tín hiệu của hai proton olefin tại δ_H 5,36 (2H, m, H-6, H-7), 11 tín hiệu proton của nhóm methylene tại δ_H 2,30 (2H, m, H-2), 2,06 (4H, m, H-5, H-8), 1,61 (2H, m, H-3), 1,34 (2H, m, H-4), 1,33 (2H, m, H-9, H-10, H-11, H-12, H-13), 1,20 (2H, H-14), một tín hiệu của nhóm methine tại δ_H 1,54 (1H, m, H-15) và 2 nhóm methyl tại δ_H 0,91 (6H, m, H-16, H-17). Phổ ^{13}C-NMR xuất hiện 17 tín hiệu trong đó một tín hiệu carbon của nhóm carboxylic acid tại δ_C 177,8 (C-1), tín hiệu của hai carbon olefin tại δ_C 130,8 (C-6, C-7), một tín hiệu của methine carbon tại δ_C 29,1 (C-15), 10 tín hiệu methylen carbon tại δ_C 40,2 (C-14), 35,0 (C-2), 33,0 (C-9, C-12), 30,7 (C-4), 28,5 (C-10, C-11), 28,1 (C-5), 26,1 (C-3), 23,7 (C-13) và tín hiệu của hai methyl carbon tại δ_C 23,0 (C-16, C-17). Các dữ liệu phổ trên cho phép xác định cấu trúc của chất **1** là một acid béo không no. Tín hiệu pic ion tại *m/z* 112,6 $[M-154-H]^-$ trên phổ (-)-ESI-MS và *m/z* 155,1 $[M-114+H]^+$ trên phổ (+)-ESI-MS gợi ý vị trí nối đôi tại vị trí C-6 và C-7. Việc gán các số liệu phổ NMR được xác định dựa trên cơ sở kết hợp phân tích dữ liệu phổ hai chiều HSQC, COSY, NOESY và HMBC. Tương tác COSY giữa H-2 (δ_H 2,30)/H-3 (δ_H 1,61); H-3 (δ_H 1,61)/H-4 (δ_H 1,34); H-4 (δ_H 1,34)/H-5 (δ_H 2,06); H-8 (δ_H 2,06)/H-9 (δ_H 1,31); H-14 (δ_H 1,34)/H-15 (δ_H 1,54); H-15 (δ_H 1,54)/H-16, H-17 (δ_H 0,91). Phổ HMBC xuất hiện tương tác giữa H-2 (δ_H 2,30) với C-1 (δ_C 177,8), C-3 (δ_C 26,1) và C-4 (δ_C 30,7); H-3 (δ_H 1,61) với C-1 (δ_C 177,8), C-2 (δ_C 35,0) và C-4 (δ_C 30,7); H-5, H-8 (δ_H 2,06) với C-6, C-7 (δ_C 130,8); H-6, H-7 (δ_H 5,36) với C-5, C-8 (δ_C 28,1); H-15 (δ_H 1,54) với với C-16, C-17 (23,0). Tương tác NOESY giữa H-6 (δ_H 5,36)/H-7 (δ_H 5,36) cho phép xác định cấu trúc tương đối của hợp chất **1** tại vị trí nối đôi C-6 và C-7 là *cis*. Kết hợp phân tích các dữ liệu phổ và so sánh với tài liệu tham khảo cho phép xác định cấu trúc của hợp chất **1** là (*6Z*)-15-methyl-6-hexadecenoic acid.[32] Hợp chất này trước đó được phân lập từ loài ốc biển *Siphonaria denticulata.*[33] Đây là lần đầu tiên hợp chất này được phân lập từ chủng xạ khuẩn *S. spiroverticillatus*.

Hợp chất **2** được phân lập dưới dạng bột màu trắng từ dịch nuôi cấy của chủng xạ khuẩn *S. cyaneus* VTCC43860. Công thức phân tử của hợp chất này là $C_{13}H_{14}O_4$, được xác định bằng phổ HR-ESI-MS với các tín hiệu tại tại *m/z* 235,0960 (tính toán lý thuyết cho $C_{13}H_{15}O_4$ 235,0970 $[M+H]^+$), 257,0783 (tính toán lý thuyết cho $C_{13}H_{14}O_4Na$ 257,0790 $[M+Na]^+$), 233,0827 (tính toán lý thuyết cho $C_{13}H_{13}O_4$ 233,0814 $[M-H]^-$). Phổ ^{1}H-NMR xuất hiện một tín hiệu proton của vòng thơm tại δ_H 6,73 (1H, s, H-5), một tín hiệu của nhóm oxymethine tại δ_H

4,42 (1H, m, H-3), hai tín hiệu proton methylene tại δ_H 3,18 (1H, dd, *J* = 16,5, 4,0 Hz, H-4a), 2,98 (1H, dd, *J* = 16,5, 7,5 Hz, H-4b), 2,95 (1H, dd, *J* = 15,5, 3,0 Hz, H-2a), 2,72 (1H, dd, *J* = 15,5, 3,0 Hz, H-2b) và hai nhóm methyl tại δ_H 2,77 (3H, s, H-12), 2,62 (3H, s, H-13). Trên phổ ^{13}C-NMR cho thấy hai tín hiệu của nhóm carbonyl tại δ_C 207,0 (C-11), 196,3 (C-1), 6 tín hiệu carbon vòng thơm tại δ_C 162,0 (C-6), 147,5 (C-10), 144,9 (C-8), 130,5 (C-7), 125,0 (C-9), 116,2 (C-5), một tín hiệu carbon oximethin tại δ_C 65,8 (C-3), hai carbon methylen tại δ_C 49,3 (C-2), 39,7 (C-4) và hai tín hiệu nhóm methyl tại δ_C 32,7 (C-13), 22,5 (C-12). Sự gắn kết các tín hiệu phổ ^{1}H và ^{13}C-NMR được khẳng định dựa trên các tương tác xuất hiện trên phổ HSQC, COSY và HMBC. Phổ COSY cho thấy tương tác giữa H-2b (δ_H 2,72)/H-3 (δ_H 4,42); H-3 (δ_H 4,42)/H-4a (δ_H 3,18), H-4b (δ_H 2,98). Tương tác HMBC giữa H-2a (δ_H 2,95) với C-3 (δ_C 65,8) và C-4 (δ_C 39,7); H-2b (δ_H 2,72) với C-1 (δ_C 196,3), C-3 (δ_C 65,8) và C-4 (δ_C 39,7) cho thấy nhóm OH được gắn tại vị trí C-3. Ngoài ra còn quan sát thấy các tương tác giữa H-4b (δ_H 2,98) với C-2 (δ_C 49,3), C-3 (δ_C 65,8) và C-9 (δ_C 125,0); H-5 (δ_H 6,73) với C-4 (δ_C 39,7), C-6 (δ_C 162,0) và C-9 (δ_C 125,0); H-12 (δ_H 2,77) với C-8 (δ_C 144,9) và C-9 (δ_C 125,0); H-13 (δ_H 2,62) với C-11 (δ_C 207,0). Tương tác giữa H-5 (δ_H 6,73) với C-7 (δ_C 130,5); H-12 (δ_H 2,77) và H-13 (δ_H 2,62) với C-7 (δ_C 130,5) khẳng định nhóm acetyl được gắn ở vị trí C-7. Dữ liệu phổ NMR của chất **2** cho thấy các tín hiệu đặc trưng của khung tetralone. Dựa vào việc phân tích phổ NMR, MS và so sánh với tài liệu tham khảo cho phép kết luận hợp chất **2** là 7-acetyl-3,6-dihydroxy-8-methyl tetralone.[34] Hợp chất này trước đó đã được phân lập từ xạ khuẩn *Micromonospora* sp. SA246 và có hoạt tính ức chế quá trình peroxy hóa lipid với giá trị IC_{50} là 1,89 µg/mL.[34] Đây là lần đầu tiên hợp chất 7-acetyl-3,6-dihydroxy-8-methyl tetralone được phân lập từ chủng xạ khuẩn *S. cyaneus*.



Hình 2. Công thức cấu tạo của các chất thứ cấp phân lập được từ chủng xạ khuẩn *S. spiroverticillatus* VH19-A067 (chất **1**), *S. cyaneus* VTCC43860 (chất **2**) và *Streptomyces* sp. VTCC43168 (chất **3**)

Hợp chất **3** được phân lập dưới dạng chất rắn màu trắng từ dịch nuôi cấy của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VTCC43168. Phổ khối ESI-MS của hợp chất này cho pic ion giả phân tử tại *m/z* 115,8 $[M-H]^-$. Phổ ^{1}H-NMR của chất **3** xuất hiện một tín hiệu proton methine gắn với nhóm chức amin tại δ_H 3,32-3,40 (1H, m, H-2), một tín hiệu proton methine tại δ_H 2,27 (1H, m, H-3) và hai tín hiệu proton methyl tại δ_H 1,08 (3H, d, *J* = 7,0 Hz, H-4), 1,03 (3H, d, *J* = 7,0 Hz, H-5). Phổ ^{13}C-NMR và DEPT của chất **3** xuất hiện 5 tín hiệu, bao gồm hai tín hiệu carbon methine với δ_C 61,8 (C-2), 31,0 (C-3), hai tín hiệu carbon methyl với δ_C 19,3 (C-4), 17,7 (C-5) và 1 tín hiệu của nhóm carboxyl với δ_C 180,3 (C-1). Trên cơ sở phân tích dữ liệu phổ trên cho phép kết luận chất **3** là valin (acid 2-amino-3-methylbutanoic).[35] Valin là một amino acid thiết yếu, tham gia quá trình tổng hợp protein.

3.3. Hoạt tính kháng viêm của các hợp chất thứ cấp phân lập được

Bệnh lao thường được biết đến gây ra các tổn thương viêm nặng nề cho phổi và các bộ phận khác trong cơ thể. Do đó, việc tìm kiếm các tác nhân vừa kháng lao, vừa có tiềm năng kháng viêm đang được các nhà khoa học trên thế giới quan tâm.[36] Hợp chất **1** và **2**

được chúng tôi đánh giá khả năng ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW264.7 được kích hoạt bằng LPS. Kết quả cho thấy chất **1 (**(*6Z*)-15-methyl-6-hexadecenoic acid) thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO ở mức độ trung bình với giá trị IC_{50} là 53,3 µM. Chất đối chứng L-NMMA có giá trị IC_{50} 16,45 µM.

4. KẾT LUẬN

Trong ba chủng xạ khuẩn *S. spiroverticillatus* VH19-A067, *S. cyaneus* VTCC43860 và *Streptomyces* sp. VTCC43168, chủng xạ khuẩn *S. spiroverticillatus* VH19-A067 thể hiện hoạt tính kháng chủng *M. smegmatis* tiềm năng. Ba hợp chất thứ cấp là *6Z*-15-methyl-6-hexadecenoic acid (chất **1**), 7-acetyl-3,6-dihydroxy-8-methyl tetralone (chất **2**) và valine (chất **3**) đã được phân lập và xác định cấu trúc từ dịch sinh khối của ba chủng trên. Cả ba hợp chất này đều lần đầu tiên được phân lập từ các chủng xạ khuẩn nghiên cứu. Hợp chất **1** thể hiện hoạt tính kháng viêm tương đối tốt, với giá trị IC_{50} là 53,3 µM. Đây cũng là hợp chất được xác định là thành phần chính được sản sinh từ chủng xạ khuẩn *S. spiroverticillatus*, một chủng xạ khuẩn kháng *M. smegmatis* đầy triển vọng. Việc nghiên cứu quy trình lên men và nuôi cấy lượng lớn chủng xạ khuẩn *S. spiroverticillatus* VH19-A067 hiện đang được chúng tôi tiến hành để góp phần tìm kiếm các hợp chất kháng lao phục vụ trong y dược học.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Bộ Khoa học và Công nghệ đã tài trợ kinh phí để thực hiện công trình này (Đề tài Nghị định thư Việt Nam - Hàn Quốc, mã số NĐT.47.KR/18).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. W. H. Organization. Global tuberculosis report 2024, *World Health Organization*, **2024**.
2. H. Minh. "Chìa khóa" để chấm dứt bệnh lao, *Báo Điện tử Chính phủ*, **2024**. https://baochinhphu.vn/chia-khoa-de-cham-dut-benh-lao-102240322132528587.htm.
3. R. Villar-Hernández, A. Ghodousi, O. Konstantynovska, R. Duarte, C. Lange, M. Raviglione. Tuberculosis: current challenges and beyond, *Breathe*, **2023**, *19*, 220166-220170. https://doi.org/10.1183/20734735.0166-2022.
4. Y. Zhu, G. Zheng, X. Xin, J. Ma, J. Ju, F. An. Combinatorial strategies for production improvement of anti-tuberculosis antibiotics ilamycins E, *Bioresour. Bioprocess.*, **2022**, *9*, 111-123. https://doi.org/10.1186/s40643-022-00599-z.
5. M. Sharma, P. Dangi, M. Choudhary, A. Sciences. Actinomycetes: source, identification, and their applications, *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*., **2014**, *3*, 801-832.
6. M. A. Arbex, M. d. C. L. Varella, H. R. d. Siqueira, F. A. F. d. Mello. Antituberculosis drugs: drug interactions, adverse effects, and use in special situations-part 2: second line drugs, *J. Bras. Pneumol.*, **2010**, *36*, 641-656.
7. C. K. Stover, P. Warrener, D. R. VanDevanter, D. R. Sherman, T. M. Arain, M. H. Langhorne, S. W. Anderson, J. A. Towell, Y. Yuan, D. N. McMurray. A small-molecule nitroimidazopyran drug candidate for the treatment of tuberculosis, *Nature*, **2000**, *405*, 962-966. https://doi.org/10.1038/35016103.
8. M. Matsumoto, H. Hashizume, T. Tomishige, M. Kawasaki, H. Tsubouchi, H. Sasaki, Y. Shimokawa, M. Komatsu. OPC-67683, a nitro-dihydro-imidazooxazole derivative with promising action against tuberculosis *in vitro* and in mice, *PLoS Med*., **2006**, *3*, e466. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030466.

9. K. Falzari, Z. Zhu, D. Pan, H. Liu, P. Hongmanee, S. G. Franzblau. *In vitro* and *in vivo* activities of macrolide derivatives against *Mycobacterium tuberculosis*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2005**, *49*, 1447-1454.

10. E. K. Schmitt, M. Riwanto, V. Sambandamurthy, S. Roggo, C. Miault, C. Zwingelstein, P. Krastel, C. Noble, D. Beer, S. P. Rao. The natural product cyclomarin kills *Mycobacterium tuberculosis* by targeting the ClpC1 subunit of the caseinolytic protease, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2011**, *123*, 6011-6013.

11. M. P. Choules, N. M. Wolf, H. Lee, J. R. Anderson, E. M. Grzelak, Y. Wang, R. Ma, W. Gao, J. B. McAlpine, Y. Y. Jin. Rufomycin targets ClpC1 proteolysis in *Mycobacterium tuberculosis* and *M. abscessus*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2019**, *63*, e02204-18. https://doi.org/10.1128/AAC.02204-18.

12. S. Matsuur. On *Streptornyces spiroverticillatus* nov. sp., *Botanical Society of Japan*, 1958, **71**, 87-93. https://doi.org/10.15281/jplantres1887.71.87.

13. X. C. Cheng, T. Kihara, H. Kusakabe, J. Magae, Y. Kobayashi, R.-P. Fang, Z.-F. Ni, Y.-C. Shent, K. Keido, I. Yamaguchi. A new antibiotic, tautomycin, *J. Antibiot.*, **1987**, *40*, 907-909. https://doi.org/10.7164/antibiotics.40.907.

14. M. Oikawa, T. Ueno, H. Oikawa, A. Ichihara. Total synthesis of tautomycin, *J. Org. Chem.*, **1995**, *60*, 5048-5068. https://doi.org/10.1021/jo00121a026.

15. J. T. Adler, M. Cook, Y. Luo, S. C. Pitt, J. Ju, W. Li, B. Shen, M. Kunnimalaiyaan, H. Chen. Tautomycetin and tautomycin suppress the growth of medullary thyroid cancer cells via inhibition of glycogen synthase kinase-3beta, *Mol. Cancer Ther.*, **2009**, *8*, 914-920. https://doi.org/10.1158/1535-7163.Mct-08-0712.

16. T. Nogawa, A. Okano, S. Takahashi, M. Uramoto, H. Konno, T. Saito, H. Osada. Verticilactam, a new macrolactam isolated from a microbial metabolite fraction library, *Org. Lett.*, **2010**, *12*, 4564-4567. https://doi.org/10.1021/ol1018618.

17. T. Nogawa, A. Terai, K. Amagai, J. Hashimoto, Y. Futamura, A. Okano, M. Fujie, N. Satoh, H. Ikeda, K. Shin-Ya. Heterologous Expression of the Biosynthetic Gene Cluster for Verticilactam and Identification of Analogues, *J. Nat. Prod.*, **2020**, *83*, 3598-3605. https://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c00755.

18. M. Uyeda, K. Yokomizo, A. Ito, K. Nakayama, H. Watanabe, Y. Kido. A New Antiherpetic Agent, AH-1763 Ila, Produced by *Streptomyces cyaneus* Strain No. 1763, *J. Antibiot.*, **1997**, *50*, 828-832. https://doi.org/10.7164/antibiotics.50.828.

19. T. Uchida, M. Imoto, T. Masuda, K. Imamura, Y. Hatori, T. Sawa, H. Naganawa, M. Hamada, T. Takeuchi, H. Umezawa. New antitumor antibiotics, ditrisarubicins A, B and C, *J. Antibiot.*, **1983**, *36*, 1080-1083. https://doi.org/10.7164/antibiotics.36.1080.

20. Cao Đức Tuấn, Trần Văn Hiệu, Đoàn Thị Mai Hương, Vũ Thị Quyên, Lê Thị Hồng Minh, Brian Murphy, Châu Văn Minh, Phạm Văn Cường. Các hợp chất thứ cấp từ chủng xạ khuẩn biển *Micromonospora* sp. (G043), *Vietnam J. Chem.*, **2016**, *54*, 581-581. https://doi.org/10.15625/0866-7144.2016-00368.

21. Huynh Thi Ngoc Ni, Pham Thi Ninh, Nguyen Thi Dung, Tran Van Chien, Nguyen Quynh Uyen, Ho Ngoc Anh, Joo-Won Suh, Jinhua Cheng, Nguyen Kim Nu Thao, Nguyen Minh Duc, Tran Thi Phuong Thao. CLPC1 protein inhibition, antimycobacterial, and anti-inflammatory properties of the metabolite from *Streptomyces wuyuanensis* collected in Nghe An province, Vietnam, *Vietnam J. Chem.* **2024**, *62*, 85-91. https://doi.org/10.1002/vjch.202300345.

22. T. T. P. Tran, N. N. T. Huynh, N. T. Pham, D. T. Nguyen, C. V. Tran, U. Q. Nguyen, A. N. Ho, J.-W. Suh, J. Cheng, T. K. N. Nguyen, S. V. Tran, D. M. Nguyen. Metabolites from *Streptomyces aureus* (VTCC43181) and Their Inhibition of *Mycobacterium tuberculosis* ClpC1 Protein, *Molecules*, **2024**, *29*(3), 720-730. https://doi.org/10.3390/molecules29030720.

23. Huỳnh Thị Ngọc Ni, Phạm Thị Ninh, Hồ Ngọc Anh, Jinhua Cheng, Joo-Won Suh, Trần Văn Sung, Nguyễn Kim Nữ Thảo, Lê Thị Hồng Nhung, Nguyễn Quỳnh Uyển, Nguyễn Minh Đức, Trần Thị Phương Thảo. Các hợp chất thứ cấp từ chủng xạ khuẩn *Actinoplanes missouriensis* và hoạt tính ức chế protein ClpC1 của vi khuẩn lao *Mycobacterium tuberculosis*, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội*, **2023**, *58*, 116-120. https://doi.org/10.57001/huih5804.2023.180.

24. J. Ranjitha, A. Rajan, V. Shankar. Features of the biochemistry of *Mycobacterium smegmatis*, as a possible model for *Mycobacterium tuberculosis, J. Infect. Public Health.*, **2020**, *13*, 1255-1264. https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.06.023.

25. Y. Zhou, W. Wei, J. Fleming, C. Ye, S. Zheng, F. Liu, L. Zhou, L. Bi, W. Liu. *Mycobacterium smegmatis* MSMEG_0129 is a nutrition-associated regulator that interacts with CarD and ClpP2, *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, **2020**, *124*, 105763-105770. https://doi.org/10.1016/j.biocel.2020.105763.

26. B. Golichenari, S. Yari, A. H. Tasbiti, J. Behravan, F. Vaziri, K. Ghazvini. First conjugation directed traverse of gene cassettes harboring α1, 3GT from fast-growing *Mycobacterium smegmatis* mc2 155 to slow-growing pathogen *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, presumably opening up new scopes in tuberculosis treatment, *Enzyme Microb. Technol.*, **2022**, *156*, 110003-110010. https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2022.110003.

27. P. N. Ramadhani, I. Dyah Kurniati, M. Dian Rakhmawatie. Antimicrobial Activity of *Pecut Kuda* Leaf Extract (*Stachytarpheta jamaicensis* (L. Vahl) against *Mycobacterium smegmatis*, *Mutiara Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, **2023**, *23*, 21-27. https://doi.org/10.18196/mmjkk.v22i2.15599.

28. V. Chaturvedi, N. Dwivedi, R. P. Tripathi, S. Sinha. Evaluation of *Mycobacterium smegmatis* as a possible surrogate screen for selecting molecules active against multi-drug resistant *Mycobacterium tuberculosis*, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **2007**, *53*, 333-337. https://doi.org/10.2323/jgam.53.333.

29. R. R. Kumar, V. J. Jadeja. Isolation of actinomycetes: A complete approach, *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*., **2016**, *5*, 606-618. http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.505.062.

30. R. Magwenzi, C. Nyakunu, S. Mukanganyama. The Effect of selected Combretum species from Zimbabwe on the growth and drug efflux systems of *Mycobacterium aurum* and *Mycobacterium smegmatis*, *J. Microb. Biochem. Technol*., **2014**, *3*, 003-009. http://dx.doi.org/10.4172/1948-5948.S3-003.

31. G. L. Allotey-Babington, H. Nettey, P. Debrah, O. Adi-Dako, C. Sasu, A. Antwi, Y. Darko, N. Nartey, J. Asare. Screening of Several Anti-Infectives for *in vitro* Activity against *Mycobacterium smegmatis*, *Adv. Microbiol.*, **2014**, *4*, 1197-1202. http://doi.org/10.4236/aim.2014.416129.

32. N. M. Carballeira, H. Cruz, C. A. Hill, J. J. De Voss, M. Garson. Identification and total synthesis of novel fatty acids from the siphonarid limpet *Siphonaria denticulata*, *J. Nat. Prod.*, **2001**, *64*, 1426-1429. https://doi.org/10.1021/np010307r.

33. K. A. El Sayed, P. Bartyzel, X. Shen, T. L. Perry, J. K. Zjawiony, M. T. Hamann. Marine natural products as antituberculosis agents, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *56*, 949-953. https://doi.org/10.1016/S0040-4020(99)01093-5.

34. W. H. Yeo, B. S. Yun, S. S. Kim, E. K. Park, Y. H. Kim, I. D. Yoo, S. H. Yu. GTRI-02, a new lipid peroxidation inhibitor from *Micromonospora* sp. SA246, *J. Antibiot.*, **1998**, *51*, 952-953. https://doi.org/10.7164/antibiotics.51.952.

35. R. Murín, G. Mohammadi, D. Leibfritz, B. Hamprecht. Glial metabolism of valine, *Neurochem. Res.*, **2009**, *34*, 1195-1203. https://doi.org/10.1007/s11064-008-9895-2.

36. D. Tiwari, A. R. Martineau. Inflammation-mediated tissue damage in pulmonary tuberculosis and host-directed therapeutic strategies, *Elsevier*, **2023**, *65*, 101672-101687. https://doi.org/10.1016/j.smim.2022.101672.

Liên hệ: **Trần Thị Phương Thảo**
Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: ntuelam2010@gmail.com.

CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE SEA SNAIL *Clypeomorus bifasciata*

Nguyen Phuong Thao, Vu Thanh Trung, Pham Thanh Binh, Kieu Thi Phuong Linh, Nguyen Van Thanh*

Institute of Marine Biochemistry, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), 18, Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

Received 10 Feb 2025; Revised 20 Feb 2025; Accepted 1 Mar 2025

Abstract

Chemical investigation of the methanol extract of *Clypeomorus bifasciata bifasciata* using various chromatographic separations led to the isolation of ten compounds (**1**-**10**). Their structures were elucidated to be 1*H*-indole-3-carbaldehyde (**1**), 3-(propan-2-ylidene)indolin-2-one (**2**), indole-3-methylethanoate (**3**), (*E*)-8-(1*H*-indol-3-yl)but-8-en-10-one (**4**), *N*-(2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl)acetamide (**5**), inosine (**6**), 2'-deoxyuridine (**7**), L-thymidine (**8**), methylparaben (**9**), and methyl-α-D-glucopyranoside (**10**) by detailed analysis of 1D, 2D NMR, and MS spectroscopic data as well as comparison with those reported. The compounds were evaluated for their antimicrobial activity against a panel of Gram-positive and Gram-negative bacteria and fungi.

Keywords: *Clypeomorus bifasciata*, Cerithiidae, indole, antimicrobial activity.

1. INTRODUCTION

The genus *Clypeomorus* comprises twelve living species, three subspecies, and three fossil species. All members of this tropical group occur in intertidal habitats and are epifaunal herbivores. They are usually common, occur in large populations, and have shells that show wide sculptural variability. Among species, there is normally great variation in the range of shell length, and in several species, local populations of dwarfed individuals occur.[1] *Clypeomorus bifasciata* (G. B. Sowerby II, 1855) is a species of sea snail, a marine gastropod mollusk in the family Cerithiidae, class Gastropoda, and phylum Mollusca.[2] This species usually occurs in large numbers on high rocky intertidal platforms and often partially buries in the patches of sand during low tide.[1,2] To date, nothing is known about the chemical composition and potential biological activities and this remains a conspicuous gap in our knowledge of this species. Herein, we report the isolation and structural elucidation of ten compounds (**1**-**10**) from a methanol extract of the sea snail *C. bifasciata*, as well as the biological assessment of all isolates obtained in this investigation.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Biological material

The specimens of *Clypeomorus bifasciata bifasciata* (G. B. Sowerby II, 1855) were collected at Binh Thuan province, Vietnam, in May 2021, and identified by Prof. Do Cong Thung. A voucher specimen (OB10-DAB3) has been deposited in the Department of Bioactive Natural Products, Institute of Marine Biochemistry, VAST, Vietnam.

2.2. Experiment

Nuclear magnetic resonance (NMR) spectra were recorded with Ascend 500/AVANCE III HD and AVANCE NEO 600 FT-NMR spectrometers (Bruker, Billerica, MA, USA) at a temperature of 303 K. NMR chemical shifts (δ) were referenced to tetramethylsilane (TMS) at

0.00 ppm. Column chromatography (CC) was performed on silica gel (Kieselgel 60, 70-230, and 230-400 mesh, Merck, Darmstadt, Germany), gel resins (ODS-A, 12 nm S-150 μm; YMC, Kyoto, Japan), and Sephadex LH-20 (Sigma-Aldrich, USA). Analytical thin-layer chromatography (TLC) was performed on precoated silica gel 60 F_{254} (1.05554.0001; Merck) and RP-18 F_{254S} plates (1.15685.0001; Merck) and the isolated compounds were visualized by spraying with 10% H_2SO_4 in water and then heating for 1.5-2 minutes. All procedures were conducted with solvents that were purchased from commercial sources and used without further purification.

2.3. Extraction and isolation

The dried muscle (1.1 kg) of *Clypeomorus bifasciata* was powdered and extracted exhaustively by methanol three times at room temperature. The concentrated MeOH extract (130 g) was dissolved in water and partitioned subsequently with *n*-hexane and ethyl acetate, successively.

The EtOAc portion (E, 60.6 g) was applied to normal-phase silica gel CC and eluted with a stepwise gradient of CH_2Cl_2-MeOH (50:1 to 0:1, v/v) to obtain 15 fractions (E-1–E-15). Compound **1** (4.2 mg) was isolated from fraction E-5 (1.6 g) by an RP-18 gel column using MeOH-H_2O mixture (1:1, v/v) as eluant. Fraction E-9 (2.1 g) was chromatographed over silica gel CC with an *n*-hexane-CH_2Cl_2-EtOAc solvent system with increasing polarity (5:1:0.1, 3:1:0.2 v/v) to afford ten subfractions (E-9.1–E-9.10). Compound **4** (1.5 mg) was purified from subfraction E-9.8 by an RP-18 column (MeOH-H_2O, 1:1, v/v). Subfraction E-9.10 (46 mg) was purified using a Sephadex LH-20 column (MeOH-H_2O, 1:1, v/v) to obtain compound **5** (5.7 mg). Next, fraction E-10 (0.6 g) was separated by silica gel CC (*n*-hexane-CH_2Cl_2-acetone, 3:1:0.1, v/v) to give 11 subfractions (E-10.1–E-10.11). Among them, subfraction E-10.9 was further purified by RP-18 CC (MeOH-H_2O, 1:2, v/v) to yield **9** (1.4 mg) and **3** (7.5 mg). Similarly, compound **2** (6.4 mg) was also obtained from subfractions E-10.11 (82.3 mg). Fraction E-15 (1.8 g) was chromatographed over silica gel CC (*n*-hexane-acetone, 5:1) to yield five subfractions (E-15.1–E-15.5). Compound **8** (11.0 mg) was purified from subfractions E-15.3 (28.3 mg). Separation of subfraction E-15.4 (70.8 mg) by RP-18 CC using MeOH-H_2O solvent system (1:3, v/v) gave compound **7** (4.0 mg). Subfraction E-15.5 (125 mg) was subjected to repeated silica gel CC (CH_2Cl_2-MeOH-H_2O, 7:1:0.1, v/v) and followed by RP-18 CC (MeOH-H_2O, 1:3) to yield compound **10** (5.6 mg).

The water layer was fractionated by Diaion HP-20 CC and eluted with an increasing concentration of MeOH in water (0, 25, 75, and 100%) to obtain five fractions (W-1–W-3). Fraction W-2 (1.6 g) was further separated by silica gel CC (CH_2Cl_2-MeOH, 20:1) to give five subfractions (W-2.1–W-2.5). Subfraction W-2.5 (62.4 mg) was subjected to silica gel CC, eluting with (CH_2Cl_2-MeOH-H_2O, 4:1:0.1, v/v) to afford **6** (5.2 mg).

1H-indole-3-carbaldehyde (**1**): White amorphous powder; mp. 195-196 ^oC; ^1H (CD_3OD, 600 MHz) and ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz) spectroscopic data, see Table 1; ESI-MS *m/z* 146.2 $[M+H]^+$ and 168.0 $[M+Na]^+$.

3-(Propan-2-ylidene)indolin-2-one (**2**): White amorphous powder; ^1H (DMSO-d_6, 600 MHz) and ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 150 MHz) spectroscopic data, see Table 1; ESI-MS *m/z* 173.1 $[M]^+$ and 174.1 $[M+H]^+$.

Indole-3-methylethanoate (**3**): White amorphous powder; ^1H ($CDCl_3$, 600 MHz) and ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) spectroscopic data, see Table 2; ESI-MS *m/z* 190.1 $[M+H]^+$.

(E)-8-(1H-indol-3-yl)but-8-en-10-one (**4**): Yellow oil; ^1H (CD_3OD, 600 MHz) and ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz) spectroscopic data, see Table 2; ESI-MS *m/z* 185.0 $[M]^+$.

N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)acetamide (**5**): Yellow oil; ^{1}H (CD_3OD, 600 MHz) and ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz) spectroscopic data, see Table 2; ESI-MS *m/z* 143.0 $[M–CONH_2]^+$ and 202.1 $[M]^+$.

Inosine (**6**): White amorphous powder; mp. 218-226 ºC; ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) δ_H: 8.06 (1H, s, H-2), 8.33 (1H, s, H-8), 5.86 (1H, d, *J* = 6.0 Hz, H-1'), 4.65 (1H, t, *J* = 5.4 Hz, H-2'), 4.34 (1H, dd, *J* = 5.4, 3.0 Hz, H-3'), 4.13 (1H, q, *J* = 4.2 Hz, H-4'), 3.65 (1H, dd, *J* = 12.0, 3.6 Hz, H-5'a), and 3.55 (1H, br d, *J* = 12.0 Hz, H-5'b).

2'-Deoxyuridine (**7**): White amorphous powder; ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) δ_H: 5.71 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-5), 7.99 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-6), 6.28 (1H, t, *J* = 6.6 Hz, H-1'), 2.31 (1H, m, H-2'a), 2.21 (1H, m, H-2'b), 4.40 (1H, m, H-3'), 3.94 (1H, q, *J* = 3.6 Hz, H-4'), 3.79 (1H, dd, *J* = 12.0, 3.0 Hz, H-5'a), and 3.73 (1H, dd, *J* = 12.0, 3.6 Hz, H-5'b).

L-thymidine (**8**): White amorphous powder; ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) δ_H: 7.83 (1H, br d, *J* = 1.2 Hz, H-6), 1.90 (3H, s, H-7), 6.30 (1H, t, *J* = 6.6 Hz, H-1'), 2.20-2.28 (2H, m, H-2'), 4.39 (1H, m, H-3'), 3.92 (1H, q, *J* = 3.6 Hz, H-4'), 3.90 (1H, dd, *J* = 12.0, 3.0 Hz, H-5'a), and 3.73 (1H, dd, *J* = 12.0, 3.0 Hz, H-5'b).

Methylparaben (**9**): Colorless needles; mp. 129-131 ºC; ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) δ_H: 6.84 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3/H-5), 7.88 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2/H-6), and 3.87 (3H, s, $COOCH_3$).

Methyl-α-D-glucopyranoside (**10**): Colorless oil; ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 600 MHz) δ_H: 4.51 (1H, d, *J* = 3.6 Hz, H-1), 3.18 (1H, m, H-2), 3.37 (1H, ddd, *J* = 9.0, 9.0, 4.8 Hz, H-3), 3.04 (1H, ddd, *J* = 9.6, 9.0, 5.4 Hz, H-4), 3.29 (1H, overlapped signal), 3.62 (1H, ddd, *J* = 12.0, 6.0, 2.1 Hz, H-6a), 3.43 (1H, ddd, *J* = 12.0, 6.0, 6.0 Hz, H-6b), 3.26 (3H, s, OCH_3), 4.66 (1H, dd, *J* = 6.6, 1.2 Hz, 2-OH), 4.70 (1H, dd, *J* = 4.8, 1.8 Hz, 4-OH), 4.82 (1H, dd, *J* = 5.4, 1.2 Hz, 5-OH), and 4.43 (1H, br t, *J* = 6.0 Hz, 6-OH); ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 150 MHz) δ_C: 99.6 (C-1), 71.9 (C-2), 73.3 (C-3), 70.3 (C-4), 72.6 (C-5), 60.9 (C-6), and 54.2 (OCH_3).

2.4. Antimicrobial assay

This part of the work was conducted according to published protocols,[3] with modifications. Strains of Gram-positive [*Enterococcus faecalis* (ATCC299212), *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), and *Bacillus cereus* (ATCC14579)], and Gram-negative [*Escherichia coli* (ATCC25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC2753), and *Salmonella enterica* (ATCC13076)] bacteria and *Candida albicans* (ATCC10231) fungal, were kept in our laboratory.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Compound **1** was obtained as a white amorphous powder. Its molecular formula was found to be C_9H_7NO as inferred from the ESI-MS ion peaks at *m/z* 146.2 $[M + H]^+$ and 168.0 $[M + Na]^+$, and the ^{13}C NMR data. The ^{1}H NMR spectrum of **1** (Table 1) revealed the presence of a deshielded singlet [δ_H 9.91 (1H, s, H-8)], four aromatic protons of an *ortho*-disubstituted benzene ring [δ_H 8.18 (1H, *J* = 7.8 Hz, H-4), 7.25 (1H, ddd, *J* = 7.8, 7.8, 1.2 Hz, H-5), 7.29 (1H, ddd, *J* = 7.8, 7.8, 1.2 Hz, H-6), and 7.50 (1H, *J* = 7.8 Hz, H-7)], and an olefinic proton [δ_H 8.11 (1H, s, H-2)]. Analysis of HSQC data established that the protons at δ_H 8.11 and 9.91 were attached to carbons at δ_C 139.6 (C-2) and 187.4 (C-8), while the four aromatic protons at δ_H 8.18, 7.25, 7.29, and 7.50 were attached to carbons at δ_C 122.4 (C-4), 123.6 (C-5), 124.9 (C-6), and 113.1 (C-7), respectively. The intense three-bond HMBC correlations from H-4 (δ_H 8.18) to C-7a (δ_C 138.9) and C-6 (δ_C 124.9), and from H-7 (δ_H 7.50) to C-3a (δ_C 125.7) and C-5 (δ_C 123.6) supported the assignment of the 1,2-disubstituted benzene ring (Fig. 2). In addition, the correlations from the deshielded proton H-8 (δ_H 9.91) to

C-2 (δ_C 139.6), C-3 (δ_C 120.1) and C-3a (δ_C 125.7), and from H-4 (δ_H 8.18) to C-3 (δ_C 120.1) confirmed the structure of **1** as 1*H*-indole-3-carbaldehyde (Figure 1). This compound was previously obtained from the whole plant of *Commelina communis* (family Commelinaceae),[4] extracellular fluids of an unknown fungus YL185 and was found to be a tyrosinase inhibitor, inhibiting oxidation and melanin biosynthesis.[5]

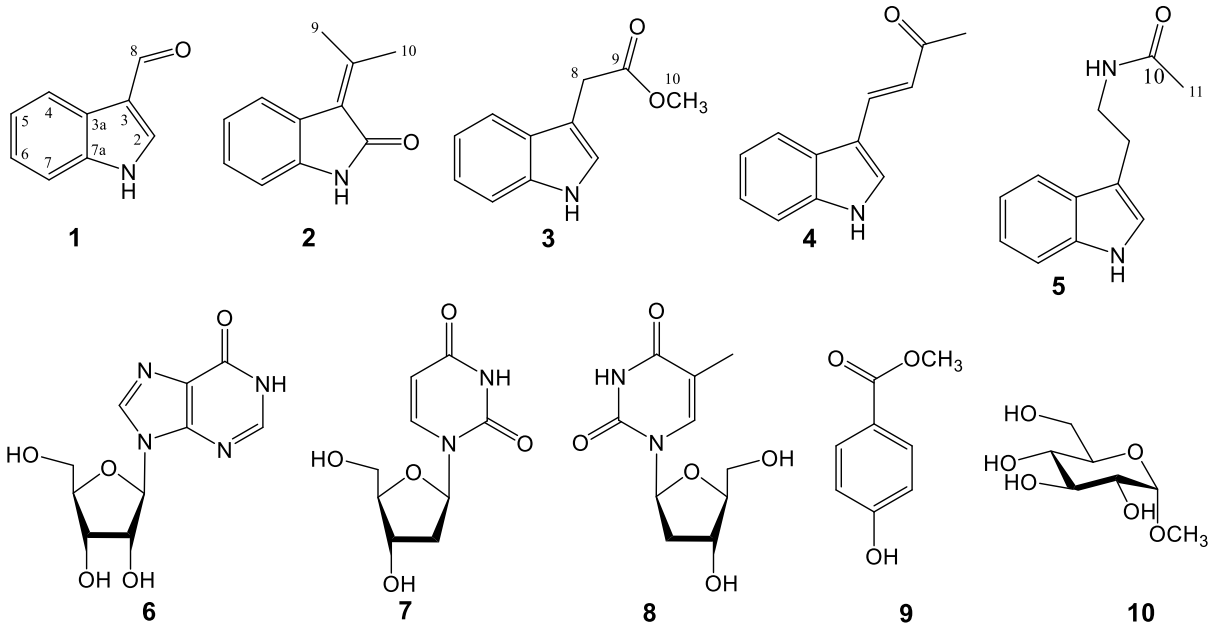


Figure 1. Chemical structures **1**-**10**

Table 1. NMR spectroscopic data of compounds **1**-**2**

Pos.	**1**		**2**	
	δ_C[a,c]	δ_H[a,d] mult. (*J* in Hz)	δ_C[b,c]	δ_H[b,d] mult. (*J* in Hz)
2	139.6	8.11 s	168.5	-
3	120.1	-	122.6	-
3a	125.7	-	123.6	-
4	122.4	8.18 br d (7.8)	123.5	7.52 br d (7.8)
5	123.6	7.25 ddd (7.8, 7.8, 1.2)	120.8	6.94 ddd (7.8, 7.8, 1.2)
6	124.9	7.29 ddd (7.8, 7.8, 1.2)	127.5	7.16 ddd (7.8, 7.8, 1.2)
7	113.1	7.50 br d (7.8)	108.9	6.81 br d (7.8)
7a	138.9	-	140.3	-
8	187.4	9.91 s	153.9	-
9			24.7	2.31 s
10			22.2	2.50 s
NH				10.39 br s

Measured in [a]CD_3OD, [b]DMSO-d_6, [c]150 MHz, and [d]600 MHz. Assignments were done by HSQC, HMBC, and COSY experiments.

3-(Propan-2-ylidene)indolin-2-one (**2**) was also obtained as a white amorphous powder. Analysis of the ^1H, ^{13}C NMR, and HSQC spectrum of **2** revealed 11 carbon signals, including six aromatic carbons with signals in the region of 108.9-140.3 ppm, one carbonyl group [δ_C

168.5 (C-2)], two tertiary methyls [δ_C 24.9 (C-9)/δ_H 2.31 (3H, s, H-9) and δ_C 22.2 (C-10)/δ_H 2.50 (3H, s, H-10)], and two olefinic carbons [δ_C 122.6 (C-3) and 153.9 (C-8)]. The presence of a spin system of four adjacent aromatic protons [δ_H 7.52 (1H, br d, 7.8), 6.94 (1H, ddd, 7.8, 7.8, 1.2), 7.16 (1H, ddd, 7.8, 7.8, 1.2), and 6.81 (1H, br d, 7.8)] and two non-protonated aromatic carbons [δ_C 123.6 (C-3a) and 140.3 (C-7a)] indicated the existence of a 1,2-disubstituted aromatic ring in **2**. Furthermore, the observed HMBC correlations from H_3-10 to C-9, C-8, C-3 and C-2 suggested the structure of **2** as shown in Figure 1. Based on the above evidence and comparison with the reported literature[6], compound **2** was determined as 3-(Propan-2-ylidene)indolin-2-one.

Compound **3** was obtained as a white amorphous powder. The general features of the ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopic data of **3** (Table 1) resemble those of **1**, revealing the presence of an *1H*-indol-3-yl moiety in **3**. The main difference between two compounds were the replace the aldehyde group at C-8 in 1 by a methyl acetate moiety. This suggestion was supported by the HMBC correlations from H-4 to C-7a and C-6, from H-7 to C-3a and C-5, from H_2-8 to C-2, C-3, C-3a and C-9, and from H_3-10 to C-9 (Figure 2). Accordingly, compound **3** was identified as indole-3-methylethanoate[7].

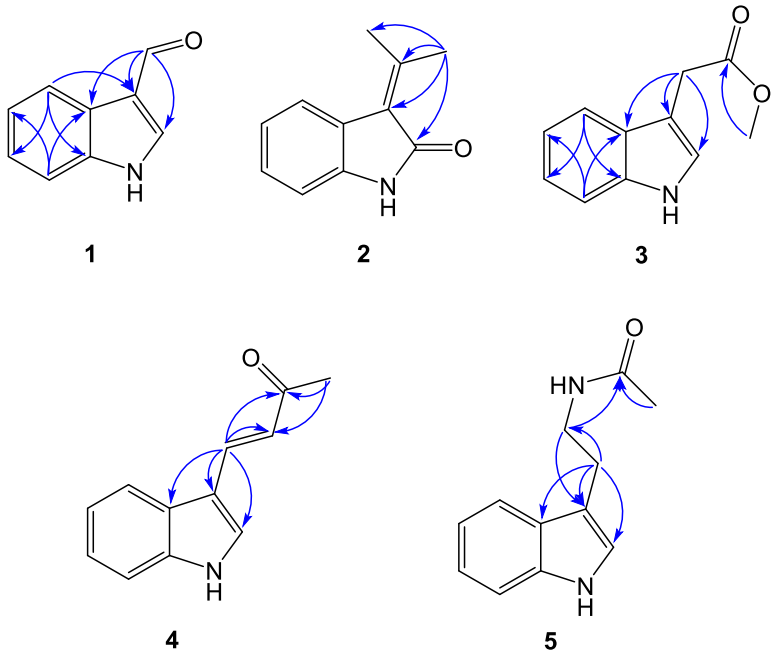


Figure 2. Key HMBC interactions of **1**-**5**

Compound **4** was isolated as a white amorphous powder. The ^{1}H and ^{13}C NMR spectra (Table 2) were similar to those of **3**, and the data suggested the existence of an *1H*-indol-3-yl moiety. The only structural difference was the presence of but-3-en-2-one group in **4**, which replaced the methyl acetate moiety in **3**. The location of the but-3-en-2-one fragment was confirmed by the HMBC correlations from H-8 to C-2, C-3, C-3a, C-9 and C-10, and from H_3-11 to C-10 and C-9 (Figure 2). Moreover, the large coupling constant values of H-10 and H-11 (J = 16.2 Hz) indicated the *trans* configuration of the double bond. Therefore, compound **4** was determines to be (*E*)-4-(1*H*-indol-3-yl)but-8-en-10-one.[8]

Compound **5** was isolated as a yellow oil. The NMR data (Table 2) revealed that **5** was an indole derivative and suggested a close structural relationship to **3**. The major difference were the presence of a ethyl acetamide group in **5** instead of a methyl acetate group in **3**. This speculation was supported by the HMBC correlations from H_2-8 to C-2, C-3, C-3a and C-9, from H_2-9 to C-10 and C-3, and from H_3-11 to C-10 (Fig. 2). Based on the above evidence

and comparison with reported literature,[9] compound **5** was finally concluded to be *N*-(2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl)acetamide.

Table 2. NMR spectroscopic data of compounds **3-5**

Pos.	**3**		**4**		**5**	
	δ_C[b,c]	δ_H[b,d] mult. (*J* in Hz)	δ_C[a,c]	δ_H[a,d] mult. (*J* in Hz)	δ_C[a,c]	δ_H[a,d] mult. (*J* in Hz)
2	123.0	7.18 s	133.1	7.77 s	123.3	7.08 s
3	108.5	-	113.9	-	113.3	-
3a	127.2	-	126.6	-	128.8	-
4	118.8	7.61 dd (8.4, 1.2)	121.1	7.91 dd (7.8, 1.2)	119.2	7.34 dd (8.4, 1.2)
5	119.7	7.13 ddd (8.4, 8.4, 1.2)	122.3	7.22 ddd (7.8, 7.8, 1.2)	119.6	7.01 ddd (8.4, 8.4, 1.2)
6	122.2	7.20 ddd (8.4, 8.4, 1.2)	124.0	7.25 ddd (7.8, 7.8, 1.2)	122.3	7.10 ddd (8.4, 8.4, 1.2)
7	111.2	7.34 dd (8.4, 1.2)	113.2	7.46 dd (7.8, 1.2)	112.2	7.57 dd (8.4, 1.2)
7a	136.1	-	139.4	-	138.2	-
8	31.1	3.79 s	141.4	7.96 d (16.2)	26.2	2.95 t (7.8)
9	172.5	-	122.4	6.79 d (16.2)	41.6	3.48 t (7.8)
10	51.9	3.70 s	201.9	-	173.5	-
11			26.7	2.39 s	22.6	1.93 s

Measured in [a]CD_3OD, [b]$CDCl_3$, [c]150 MHz, and [d]600 MHz. Assignments were done by HSQC and HMBC experiments.

Additionally, the remaining four compounds were identified as inosine (**6**), 2'-deoxyuridine (**7**), L-thymidine (**8**),[10] methylparaben (**9**), and methyl-α-D-glucopyranoside (**10**),[11] by comprehensive spectroscopic analyses together with comparison of their reported spectroscopic data.

Compounds **1**−**10** were investigated for their antimicrobial activity against a panel of microbes, including three Gram-positive bacteria (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus cereus*), three Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Salmonella enterica*), and one human pathogenic fungus (*Candida albicans*), by using the previously reported method.[3] As shown in Table 3, compound **5** exhibited moderate activity against strain *E. faecalis* with an MIC value of 64 μg/mL, whereas compounds **2**−**3**, and **10** were weakly active against this bacterium with the MIC values ranging from 128 to 256 μg/mL. However, no activity of **2**-**3**, **5**, and **10** was observed against strains *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. enterica*, and the yeast *C. albicans* at 256 μg/mL. For antifungal activity, only compound **6** showed weak activity toward the yeast *C. albicans* with a MIC value of 128 μg/mL, but no inhibition was observed in the Gram-positive and Gram-negative strains (>256 μg/mL). The bioactivities of the other compounds could not be assessed due to insufficient material for testing. To the best of our knowledge, there are no reports in the literature investigating the antimicrobial effect of *Clypeomorus bifasciata bifasciata*.

Table 3. Antimicrobial activity of selected compounds (MIC, μg/mL)

Compounds	Gram-positive				Gram-negative			Yeast
	E. faecalis	*S. aureus*	*B. cereus*		*E. coli*	*P. aeruginosa*	*S. enterica*	*C. albicans*
2	128	-	-		-	-	-	-
3	256	-	-		-	-	-	-
5	64	-	-		-	-	-	-
6	-	-	-		-	-	-	128
10	128	-	-		-	-	-	-
Streptomycin	256	256	128		32	256	128	
Cycloheximide								32

Streptomycin and cyclohexamide were used as reference compounds.

Acknowledgments. This research is funded by a grant from the Vietnam Academy of Science and Technology (TĐDLB0.05/20-22).

REFERENCES

1. R. S. Houbrick. Genus *Clypeomorus* Jousseaume (Cerithiidae: Prosobranchia), *Smithsonian Contributions to Zoology*, **1985**, *403*, 1.
2. J. Abdul-Salam, B. S. Sreelatha, W. Al-Kandari. Temporal variations in the infection of a population of *Clypeomorus bifasciata* (Gastropoda: Prosobranchia) by a digenean microphallid larva in Kuwait Bay, *J. Helminthol*., **1997**, *71*, 1.
3. C. D. Danh, D. T. Quynh, D. T. M. Huong, V. T. Quyen, N. M. Anh, L. T. H. Minh, T. D. Thach, C. V. Minh, D. C. Thung, P. V. Cuong. Antimicrobial lavandulylated flavonoids from a sponge-derived actinomycete, *Nat. Prod. Res*., **2021**, *34*, 413.
4. Q. Yang, G. Ye. A new C-glucoside from *Commelina communis*, *Chem. Nat. Comp*., **2009**, *45*, 59.
5. J. T. Chen, H. J. Su, J. W. Huang. Isolation and identification of secondary metabolites of *Clitocybe nuda* responsible for inhibition of zoospore germination of *Phytophthora capsici*, *J. Agric. Food Chem.*, **2012**, *60*, 7341.
6. M. S. Morales-Ríos, M. García-Velgara, H. Cervantes-Cuevas, C. Alvarez-Cisneros, P. Joseph-Nathan. Push-pull and pull-push effects in isatylidenes, *Magn. Reson. Chem*., **2000**, *38*, 172.
7. Yonghong Liu, Jee H. Jung, Si Zhang. Indole alkaloids from a sponge *Sarcotragus* species, *Biochem. Syst. Ecol.*, **2005**, *34*, 453.
8. B. J. Lundy, S. Jansone-Popova, J. A. May. Enantioselective conjugate addition of alkenylboronic acids to indole-appended enones, *Org. Lett*., **2011**, *13*, 4958.
9. Y. Li, X. F. Li, D. S. Kim, H. D. Choi, B. W. Son. Indolyl alkaloid derivatives, Nb-acetyltryptamine and oxaline from a marine-derived fungus, *Arch. Pharm. Res*., **2003**, *26*, 21.
10. E. Moyroud, E. Biala, P. Strazewski. Synthesis and enzymatic digestion of an RNA nonamer in both enantiomeric forms, *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 1475.

11. R. Smoum, A. Rubinstein, M. Srebnik. Combined ^{1}H, ^{13}C and ^{11}B NMR and mass spectral assignments of boronate complexes of D-(+)-glucose, D-(+)-mannose, methyl-α-D-glucopyranoside, methyl-β-D-galactopyranoside and methyl-α-D-mannopyranoside, *Magn. Reson. Chem*., **2003**, *41*, 1015.

Corresponding author: **Nguyen Van Thanh**
Institute of Marine Biochemistry
Vietnam Academy of Science and Technology
18, Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam
Email: thanhcmgu@yahoo.com / nvthanh1977@imbc.vast.vn.

NGHIÊN CỨU VÀ BẢO TỒN ĐA DẠNG SINH HỌC PHỤC VỤ PHÁT TRIỂN XANH VÀ BỀN VỮNG Ở VIỆT NAM

Nguyễn Quảng Trường*, Lê Hùng Anh, Đỗ Văn Hài

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày gửi bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

Về đa dạng sinh học, Việt Nam là một trong những nước có mức độ đa dạng loài cao nhất trên thế giới với hơn 14.400 loài thực vật và 33.600 loài động vật được ghi nhận. Tuy nhiên, đa dạng sinh học của Việt Nam cũng đang đứng trước nguy cơ bị suy thoái. Ước tính có khoảng 1.400 loài hoang dã của Việt Nam có nguy cơ bị đe dọa tuyệt chủng có tên trong Danh lục Đỏ IUCN hoặc Sách Đỏ Việt Nam, 5 loài trong số đó đã chính thức tuyệt chủng hoặc tuyệt chủng trong tự nhiên. IUCN đã phân loại 12 yếu tố đe dọa đến các loài động vật và thực vật hoang dã, trong đó những yếu tố sau ảnh hưởng chính đến các loài ở Việt Nam: phát triển khu dân cư và cơ sở hạ tầng, nông nghiệp và nuôi trồng thủy sản, sử dụng tài nguyên sinh vật, xâm phạm và quấy nhiễu của con người, ô nhiễm, biến đổi khí hậu và thời tiết cực đoan, loài ngoại lai, biến đổi gen và bệnh tật. Trong những năm gần đây, Việt Nam đã có những nỗ lực đáng ghi nhận trong bảo tồn các loài hoang dã thông qua việc tham gia các công ước quốc tế, xây dựng khung pháp luật quốc gia, thành lập các khu bảo tồn thiên nhiên, triển khai các chương trình bảo tồn tại chỗ và chuyển chỗ. Để phát triển xanh và bền vững trong kỷ nguyên mới của dân tộc, bài báo này đề xuất một số kiến nghị nhằm thực hiện các mục tiêu của Khung đa dạng sinh học toàn cầu Côn Minh - Montreal và Kế hoạch quốc gia về da dạng sinh học.

Từ khóa. Bảo tồn, loài hoang dã, loài bị đe dọa tuyệt chủng, phát triển bền vững, yếu tố tác động

1. GIỚI THIỆU

Đa dạng sinh học toàn cầu đang đứng trước nguy cơ suy thoái rất đáng quan ngại. Đến cuối năm 2024, các nhà khoa học đã đánh giá hiện trạng bảo tồn của 166.061 loài sinh vật, trong đó khoảng 46.300 loài (chiếm 28% số lượng loài được đánh giá) đang bị đe dọa tuyệt chủng (IUCN 2024). Việt Nam thuộc vùng địa lý sinh vật Indo-Burma, một trong 36 điểm nóng về đa dạng sinh học trên thế giới (CI 2021). Myer và cs. (2000)[3] ước tính ở khu vực Indo-Burma có khoảng 2,06 triệu km^2 sinh cảnh tự nhiên, là nơi sinh sống của khoảng 13.500 loài thực vật (trong đó có khoảng 7.000 loài đặc hữu) và 2.185 loài động vật có xương sống (trong đó có khoảng 528 loài đặc hữu). Việt Nam có địa hình phức tạp và nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa nên khu hệ sinh vật có tính đa dạng cao, xếp hạng thứ 14 trên thế giới với chỉ số đa dạng sinh học 216,97 (World Population Review, 2024). Tuy nhiên, theo ước tính có khoảng 16% số lượng các loài hoang dã ở Việt Nam có nguy cơ bị đe dọa tuyệt chủng có tên trong Danh lục Đỏ IUCN (2024) và Danh lục Đỏ Việt Nam (2024).

Bài báo này đánh giá tổng quan về công tác nghiên cứu đa dạng sinh học và bảo tồn các loài hoang dã ở Việt Nam trong bối cảnh nước ta triển khai thực hiện "*Khung Đa dạng sinh học toàn cầu Côn Minh - Montreal (GBF, 2022)*" và "*Chiến lược quốc gia về Đa dạng sinh học*" theo Quyết định số 149/QĐ-TTg ngày 28/01/2022 của Thủ tướng Chính phủ[21] với mục tiêu phát triển kinh tế xanh và bền vững gắn liền với bảo tồn thiên nhiên, bảo vệ môi trường, phòng chống thiên tai và thích ứng với biến đổi khí hậu.

2. ĐA DẠNG SINH HỌC VÀ TÌNH TRẠNG BẢO TỒN LOÀI HOANG DÃ Ở VIỆT NAM

Công tác nghiên cứu và bảo tồn các loài hoang dã

a) Đa dạng loài

Số lượng các loài hoang dã ghi nhận ở Việt Nam tăng lên đáng kể trong thập kỷ vừa qua với hàng ngàn loài mới khoa học và ghi nhận phân bố mới đã được phát hiện. Trong giai đoạn 2010-2020, các nhà khoa học của Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật đã mô tả 3 giống mới và hơn 600 loài động vật và thực vật mới cho khoa học với các mẫu chuẩn thu ở Việt Nam. Số lượng loài thực vật ở Việt Nam ước tính khoảng 14.400 loài, gồm 12.000 loài thực vật có mạch và khoảng hơn 2.000 loài thực vật bậc thấp (Bộ Tài nguyên và Môi trường, 2022). Về động vật, đã ghi nhận 331 loài thú, 918 loài chim, 517 loài bò sát, 264 loài lưỡng cư, hơn 3.500 loài cá, khoảng 20.000 loài côn trùng, 491 loài nhện, 6.300 loài động vật đáy, 657 loài động vật nổi, hơn 200 loài giun đất, hơn 300 loài giun tròn, 190 loài giun sán ký sinh (Nguyễn Quảng Trường và cs., 2020; Bộ Tài nguyên và Môi trường, 2022).

b) Các loài bị đe dọa tuyệt chủng

Theo Danh lục Đỏ IUCN (2024) có 1.451 loài bị đe dọa ở cấp độ toàn cầu ghi nhận phân bố ở Việt Nam gồm 569 loài thực vật và 882 loài động vật (Bảng 1). Ở cấp độ quốc gia, tổng số loài bị đe dọa có tên trong Danh lục Đỏ Việt Nam (2024) là 1.398, gồm 644 loài thực vật, 12 loài nấm và 742 loài động vật (Nguyễn Quảng Trường và cs. 2024). So với Danh lục Đỏ Việt Nam (2007), số lượng loài bị đe dọa có tên trong Danh lục Đỏ Việt Nam (2024) tăng lên khoảng 40% (1.398 loài so với 836 loài), trong đó số lượng loài thực vật tăng 196 loài, nấm tăng 6 loài và động vật tăng 354 loài (Bảng 1). Số lượng các loài bị đe dọa từ bậc NT đến CR cũng tăng lên đáng kể, có 135 loài thực vật và 129 loài động vật ở bậc CR, 271 loài thực vật và 220 loài động vật ở bậc EN, 231 loài thực vật và 339 loài động vật ở bậc VU. Đáng chú

Bảng 1. So sánh số loài bị đe dọa tuyệt chủng có phân bố ở Việt Nam theo Danh lục Đỏ IUCN (2024) và Danh lục Đỏ Việt Nam (2007, 2024)

Nhóm	Bậc đe dọa						Cộng
	EX	EW	CR	EN	VU	NT	
Thực vật							
IUCN	0	1	107	186	185	80	**569**
Danh lục Đỏ Việt Nam							
2007	1	0	45	188	210	4	**448**
2024	0	0	135	271	231	7	**644**
Nấm							
IUCN	0	0	0	0	0	0	**0**
Danh lục Đỏ Việt Nam							
2007	0	0	0	3	3	0	**6**
2024	0	0	0	11	0	1	**12**
Động vật							
IUCN	1	0	102	361	266	152	**882**
Danh lục Đỏ Việt Nam							
2007	7	16	77	184	75	29	**388**
2024	1	4	129	220	339	49	**742**

ý, có 5 loài động vật đã bị tuyệt chủng (bậc EX) hoặc tuyệt chủng trong tự nhiên (bậc EW) ở Việt Nam: Hươu sao (*Cervus nippon*), Tê giác một sừng (*Rhinoceros sondaicus*), Gà lôi lam mào trắng (*Lophura edwardsi*), Cá sấu hoa cà (*Crocodylus porosus*) và Rùa ba-ta-gua miền nam (*Batagur affinis*).

3. CÁC MỐI ĐE DỌA ĐỐI VỚI CÁC LOÀI HOANG DÃ

Các yếu tố đe dọa đến các loài hoang dã có ở cả ba cấp độ: hệ sinh thái, loài và nguồn gen. Ở cấp độ hệ sinh thái là mất và suy thoái sinh cảnh sống, ở cấp độ loài là suy giảm và chia cắt quần thể, ở cấp độ nguồn gen là suy thoái nguồn gen do giao phối cận huyết và lai tạp. Đối với thực vật, dữ liệu của IUCN (2024) đánh giá có tổng số 569 loài bị đe dọa tuyệt chủng phân bố ở Việt Nam trong đó ba yếu tố ảnh hưởng lớn nhất đến các loài là: hoạt động sản xuất nông nghiệp và nuôi trồng thủy sản (73,3% số lượng loài bị đe dọa), sử dụng tài nguyên (50,8%) và phát triển khu dân cư và xây dựng cơ sở hạ tầng (38%). Đối với động vật, IUCN (2024) đánh giá 882 loài bị đe dọa phân bố ở Việt Nam trong đó tám yếu tố ảnh hưởng lớn nhất đến các loài là: sử dụng tài nguyên (82,7% số lượng loài bị đe dọa), phát triển khu dân cư và xây dựng cơ sở hạ tầng (48,5%); sản xuất nông nghiệp và nuôi trồng thủy sản (41,0%), ô nhiễm (39,3%), biến đổi khí hậu và thời tiết cực đoan (33,6%), xâm phạm và quấy nhiễu của con người (32,7%), xây dựng hạ tầng giao thông và các hành lang (32,0%) và ảnh hưởng của các loài ngoại lai, biến đổi gen, bệnh tật (27,9%) (Bảng 2).

Bảng 2. Số loài sinh vật bị đe dọa ở Việt Nam theo phân loại yếu tố tác động (IUCN 2024)

Mối đe dọa	Thực vật		Động vật	
	Số loài bị đe dọa	Tỉ lệ (%)	Số loài bị đe dọa	Tỉ lệ (%)
Phát triển khu dân cư và cơ sở hạ tầng	216	38,0	428	48,5
Nông nghiệp và nuôi trồng thủy sản	417	73,3	362	41,0
Sản xuất năng lượng và khai thác khoáng sản	25	4,4	165	18,7
Xây dựng hạ tầng giao thông và các hành lang	147	25,8	282	32,0
Sử dụng tài nguyên	289	50,8	729	82,7
Xâm phạm và quấy nhiễu của con người	42	7,4	288	32,7
Thay đổi thiên nhiên	62	10,9	174	19,7
Các loài ngoại lai, biến đổi gen, bệnh tật	19	3,3	246	27,9
Ô nhiễm	23	4,0	347	39,3
Thiên tai	1	0,2	5	0,6
Biến đổi khí hậu và thời tiết cực đoan	26	4,6	296	33,6
Các yếu tố khác	11	1,9	5	0,6

3.1. Các yếu tố tác động đến quần thể của các loài

Việc khai thác bất hợp lý các loài hoang dã phục vụ mục đích thương mại, làm dược liệu, thực phẩm hoặc giải trí là nguyên nhân khiến nhiều loài sinh vật của Việt Nam đứng trước nguy cơ bị đe dọa tuyệt chủng. Số lượng các loài thực vật do ảnh hưởng của khai thác và sử dụng tài nguyên theo đánh giá của IUCN (2024) là 289 loài (chiếm 50,8% số loài bị đe dọa). Đối với động vật, theo IUCN (2024) thì số lượng loài bị ảnh hưởng do khai thác và sử dụng tài nguyên là 729 loài (chiếm 82,7% số loài bị đe dọa). Việc buôn bán các loài đặc hữu làm các quần thể bị suy giảm đáng kể. Theo Janssen & Indenbaum (2019), có ít nhất 2.054 cá

thể của 7 loài bò sát đặc hữu của Việt Nam bị buôn bán trái phép trong năm 2017. Báo cáo tổng kết tình hình thực thi pháp luật về động vật hoang dã tại Việt Nam (2013-2017) cho thấy các cơ quan chức năng đã phát hiện, bắt giữ 1.504 vụ vi phạm với 1.461 đối tượng có hành vi vi phạm pháp luật về bảo vệ động vật hoang dã (Báo cáo Hội thảo tại Nha Trang tháng 4/2021). Dân số tăng cao và nhu cầu tiêu dùng gia tăng cùng với việc quản lý đánh bắt chưa hiệu quả cũng dẫn tới việc khai thác thủy sản quá mức ở nhiều vùng nước nội địa và biển cũng làm suy giảm nguồn lợi thủy sinh vật.

3.2. Các yếu tố tác động đến sinh cảnh sống của các loài

Sinh cảnh sống của các loài hoang dã, đặc biệt là rừng tự nhiên, đã bị thu hẹp, suy thoái, chia cắt do chuyển đổi mục đích sử dụng đất và mặt nước. Báo cáo của BIODEV (2021) phân tích sự thay đổi lớp phủ giai đoạn 2000-2018 cho thấy diện tích rừng tự nhiên ở Việt Nam giảm khoảng gần 2.000 km^2 (4,42% tổng diện tích rừng), rừng ngập mặn giảm 154 km^2 (11,49%), rừng hỗn giao giảm 11.095 km^2 (32,33%) và rừng ngập nước giảm 1.784 km^2 (68,32%). Số liệu về sinh cảnh tự nhiên ở 187 khu bảo tồn cũng bị suy giảm: rừng ngập nước giảm 487 km^2 (75%) và rừng hỗn giao giảm 776 km^2 (39%); ở 99 khu đa dạng sinh học trọng điểm: rừng hỗn giao giảm 549 km^2 (40%). Báo cáo này cũng phân tích số liệu của 181 loài bị đe dọa ở Việt Nam và đánh giá hai yếu tố ảnh hưởng lớn nhất đến các loài hoang dã là chuyển đổi đất rừng thành đất nông nghiệp/nuôi trồng thủy sản và khai thác gỗ.

Bên cạnh đó, các hoạt động quấy nhiễu của con người như tiếng ồn, khói, ánh sáng nhân tạo các hoạt động du lịch cũng ảnh hưởng đến sinh cảnh sống của các loài hoang dã, đặc biệt là các loài nhạy cảm sống ở hệ sinh thái núi đá vôi hoặc chuyên biệt về điều kiện sinh thái như các loài sống trong các hang động hoặc trên đảo như các loài linh trưởng, dơi, tắc kè. Các loài thú lớn có thể giảm khả năng sinh sản do stress hoặc quần thể bị chia cắt, không đảm bảo tỉ lệ giới tính phù hợp.

3.3. Ảnh hưởng của biến đổi khí hậu và thời tiết cực đoan

Việt Nam là một trong 5 quốc gia chịu ảnh hưởng nghiêm trọng nhất của biến đổi khí hậu (IPCC 2024). Các loài hoang dã sẽ chịu tác động khi một phần hệ sinh thái sẽ bị ngập mặn do nước biển dâng, đặc biệt là các đảo và vùng ven biển, dẫn đến thu hẹp diện tích vùng phân bố, mất bãi đẻ. Nhiệt độ không khí tăng cũng sẽ làm mất cân bằng giới tính đối với các loài có tỉ lệ giới tính của con non phụ thuộc vào nhiệt độ ấp trứng như rùa và cá sấu. Theo đánh giá của IUCN (2024), có 26 loài thực vật và 296 loài động vật bị đe dọa phân bố ở Việt Nam chịu ảnh hưởng của biến đổi khí hậu và thời tiết cực đoan (Bảng 2). Riêng đồng bằng sông Cửu Long có khoảng 1,7 triệu ha đất sẽ bị nhiễm mặn, lượng nước ngọt sẽ bị thiếu hụt nghiêm trọng. Các hiện tượng thời tiết cực đoan như mưa lũ, nắng nóng kéo dài cũng làm đảo lộn tập tính của các loài hoang dã. Lũ lụt hoặc băng giá ở các vùng núi cao cũng có thể ảnh hưởng đến các loài thực vật hoặc các loài động vật biến nhiệt như lưỡng cư và bò sát. Nắng nóng và khô hanh cũng làm gia tăng khả năng cháy rừng, ảnh hưởng nghiêm trọng tới môi trường sống và các loài hoang dã.

3.4. Ô nhiễm, các loài ngoại lai và dịch bệnh

Theo số liệu của IUCN (2024), yếu tố ô nhiễm ảnh hưởng đến 23 loài thực vật và 347 loài động vật bị đe dọa ở Việt Nam (Bảng 2). Các loài bị ảnh hưởng nặng nề nhất là các loài thủy sinh vật (cả cá thể trưởng thành và ấu trùng) do chịu tác động trực tiếp của xả thải công nghiệp và thuốc bảo vệ thực vật.

Theo đánh giá của IUCN (2024), có 19 loài thực vật và 246 loài động vật bị de dọa ở Việt Nam chịu ảnh hưởng của yếu tố loài ngoại lai (Bảng 2). Loài Ốc bươu vàng (*Pomacea canaliculata*) được di nhập vào Việt Nam vào những năm 1980 và nay đã lan rộng ra toàn quốc. Tính đến năm 1997, Ốc bươu vàng đã gây hại cho 132.000 ha diện tích đất trồng lúa.

Loài Rùa tai đỏ (*Trachemys scripta elegans)* có xuất xứ từ Bắc Mỹ cũng là một trong những đối tượng có nguy cơ ảnh hưởng tiêu cực đến các loài rùa bản địa. Ốc sên châu phi (*Achatina fulica*) gây hại đối với cây trồng hay Cá dọn bể (*Hypostomus punctatus*) gây hại đến các loài động vật thủy sinh bản địa (Lê Trung Dũng và cs., 2020). Hiện ghi nhận 94 loài thực vật ngoại lai di nhập vào Việt Nam, trong đó có 42 loài xâm hại, 12 loài xâm hại điển hình và đang phát triển nhanh như Mai dương (*Mimosa pigra*) và Bèo nhật bản (*Eichhornia crassipes*).

Các loài động vật hoang dã cũng chịu ảnh hưởng của dịch bệnh như các loại ký sinh trùng, vi khuẩn, virus và nấm. Các nghiên cứu gần đây đã phát hiện hai chủng nấm trên các loài lưỡng của Việt Nam là *Batrachochytrium dendrobatidis* và *B. salamandrivorans* (Martel et al., 2014). Bên cạnh đó, việc buôn bán động vật hoang dã trái pháp luật cũng là nguồn lây lan dịch bệnh từ động vật sang người (Spevack, 2020).

4. NỖ LỰC TRONG CÔNG TÁC BẢO TỒN LOÀI HOANG DÃ Ở VIỆT NAM

4.1. Tham gia công ước quốc tế

Việt Nam tham gia ký kết Công ước Đa dạng sinh học (CBD) vào năm 1994, trong đó Điều 8 đề cập đến bảo tồn tại chỗ, Điều 9 đề cập đến bảo tồn chuyển chỗ và Điều 10 đề cập đến sử dụng bền vững đa dạng sinh học.

Việt Nam tham gia ký kết Công ước về buôn bán quốc tế các loài động, thực vật hoang dã nguy cấp (CITES) vào năm 1994. Hiện có khoảng 5.000 loài động vật và 29.000 loài thực vật được đưa vào các phụ lục CITES để quản lý thương mại quốc tế (CITES, 2024).

4.2. Xây dựng hành lang pháp lý

Việt Nam đã ban hành các luật có liên quan trực tiếp đến các loài hoang dã gồm: Luật Đa dạng sinh học ngày 13/11/2008 (sửa đổi, bổ sung ngày 20/11/2018) quy định về bảo tồn và phát triển bền vững các loài sinh vật và có chế độ quản lý đối với 3 nhóm loài: Nhóm loài nguy cấp, quý, hiếm được ưu tiên bảo vệ; Nhóm loài sinh vật nói chung; và Nhóm các loài sinh vật ngoại lai xâm hại cần kiểm soát; Luật Lâm nghiệp 2017 ngày 15/11/2017 quy định về bảo vệ thực vật rừng, động vật rừng; Luật Thủy sản 2017 ngày 21/11/2017 quy định bảo vệ và phát triển nguồn lợi thủy sản; Luật Bảo vệ môi trường 2020 ngày 17/11/2020 quy định về bảo vệ các thành phần môi trường, di sản thiên nhiên, những yếu tô liên quan trực tiếp đến môi trường sống của các loài hoang dã.

Chế tài xử lý vi phạm liên quan đến các loài hoang dã được quy định ở các bộ luật và luật như: Bộ luật hình sự ngày 27/11/2015 (sửa đổi, bổ sung ngày 20/06/2017); Bộ luật tố tụng hình sự ngày 17/06/2020; Luật xử lý vi phạm hành chính ngày 20/6/2012 (sửa đổi, bổ sung ngày 13 tháng 11 năm 2020). Các nghị định của Chính phủ có liên quan bao gồm: Nghị định số 65/2010/NĐ-CP ngày 11/6/2010 quy định chi tiết và hướng dẫn thi hành một số điều của Luật Đa dạng sinh học; Nghị định số 155/2016/NĐ-CP ngày 18/11/2016 quy định về xử phạt vi phạm hành chính trong lĩnh vực bảo vệ môi trường; Nghị định số 160/2013/NĐ-CP ngày 12/11/2013 về tiêu chí xác định loài và chế độ quản lý loài thuộc Danh mục loài nguy cấp, quý, hiếm được ưu tiên bảo vệ; Nghị định số 64/2019/NĐ-CP ngày 16/7/2019 sửa đổi Điều 7 Nghị định số 160/2013/NĐ-CP; Nghị định số 06/2019/NĐ-CP ngày 22/1/2019 về quản lý thực vật rừng, động vật rừng nguy cấp, quý, hiếm và thực thi Công ước về buôn bán quốc tế các loài động vật, thực vật hoang dã nguy cấp; Nghị định số 84/2021/NĐ-CP ngày 22/9/2021 sửa đổi, bổ sung một số điều của Nghị định số 06/2019/NĐ-CP; Nghị định số 26/2019/NĐ-CP ngày 08/3/2019 quy định chi tiết một số điều và biện pháp thi hành Luật Thủy sản; Nghị định số 35/2019/NĐ-CP ngày 25/4/2019 quy định xử phạt vi phạm hành chính trong lĩnh vực lâm nghiệp; Nghị định số 42/2019/NĐ-CP ngày 16/5/2019 quy định xử phạt vi phạm hành chính trong lĩnh vực thủy sản; Nghị định số 98/2020/NĐ-CP ngày

26/8/2020 quy định xử phạt vi phạm hành chính trong hoạt động thương mại, sản xuất, buôn bán hàng giả, hàng cấm và bảo vệ quyền lợi người tiêu dùng.

Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, Bộ Tài nguyên và Môi trường cũng ban hành môt số thông tư có liên quan như: Thông tư số 19/2018/TT-BNNPTNT hướng dẫn về bảo vệ và phát triển nguồn lợi thủy sản; Thông tư số 27/2018/TT-BNNPTNT ngày 16/11/2018 quy định về quản lý, truy xuất nguồn gốc lâm sản; Thông tư số 35/2018/TT-BTNMT ngày 28/12/2018 quy định tiêu chí xác định và ban hành Danh mục loài ngoại lai xâm hại; Thông tư số 29/2019/TT-BNNPTNT ngày 31/12/2019 quy định xử lý động vật rừng là tang vật, vật chứng; động vật rừng do tổ chức, cá nhân tự nguyện giao nộp Nhà nước.

4.3. Các chương trình bảo tồn loài nguy cấp, quý, hiếm

4.3.1. Xây dựng danh mục các loài nguy cấp, quý, hiếm

Danh mục loài nguy cấp, quý, hiếm được ưu tiên bảo vệ ban hành kèm theo Nghị định số 160/2013/NĐ-CP của Chính phủ, gồm 17 loài thực vật và 82 loài động vật. Danh mục này được cập nhật theo Nghị định số 64/2019/NĐ-CP, gồm 28 loài thực vật 96 loài động vật (Bảng 3).

Danh mục loài thực vật rừng, động vật rừng nguy cấp, quý, hiếm ban hành kèm theo Nghị định số 06/2019/NĐ-CP, gồm Nhóm I có 39 loài thực vật và 92 loài động vật, Nhóm II có 55 loài và nhóm loài thực vật, 87 loài và nhóm loài động vật. Danh mục này được cập nhật tại Nghị định số 84/2021/NĐ-CP, gồm Nhóm I có 21 loài/nhóm loài thực vật và 105 loài động vật, Nhóm II có 53 loài/nhóm loài thực vật, 81 loài/nhóm loài động vật (Bảng 3).

Danh mục các loài thủy sản ban hành kèm theo Nghị định số 26/2019/NĐ-CP gồm 43 loài và nhóm loài cấm xuất khẩu và 65 loài và nhóm loài xuất khẩu có điều kiện (Bảng 3).

Bảng 3. Số lượng các loài thực vật, động vật có tên trong các nghị định của Chính phủ

Nhóm	Loài nguy cấp, quý, hiếm được ưu tiên bảo vệ		Loài/nhóm loài thực vật, động vật rừng nguy cấp, quý, hiếm		Loài/nhóm loài thủy sản
	Nghị định số 160/2013	Nghị định số 64/2019	Nghị định số 06/2019	Nghị định số 84/2021	Nghị định số 26/2019
Thực vật	17	28			
Nhóm IA			39	21	
Nhóm IIA			55	53	
Động vật	82	96			
Nhóm IB			92	105	Cấm xuất khẩu: 43
Nhóm IIB			87	81	Xuất khẩu có điều kiện: 65

4.3.2. Các chương trình bảo tồn loài nguy cấp, quý, hiếm

Trong 10 năm trở lại đây, một số chương trình bảo tồn loài cấp quốc gia đã được Thủ tướng Chính phủ phê duyệt và triển khai thực hiện ở Việt Nam như: Quyết định số 1671/QĐ-TTg ngày 28/9/2015 phê duyệt Chương trình bảo tồn và sử dụng bền vững nguồn gen đến năm 2025, định hướng đến năm 2030; Quyết định số 628/QĐ-TTg ngày 10/5/2017 phê duyệt Kế hoạch hành động khẩn cấp bảo tồn các loài Linh trưởng của Việt Nam đến năm 2025 tầm nhìn đến năm 2030; Quyết định số 1176/QĐ-TTg ngày 12/9/2019 phê duyệt Chương trình

bảo tồn các loài rùa nguy cấp của Việt Nam đến năm 2025 tầm nhìn đến năm 2030; Quyết định số 413/QĐ-TTg ngày 31/3/2022 của Thủ tướng Chính phủ phê duyệt Kế hoạch hành động Quốc gia về bảo tồn Voi tại Việt Nam đến năm 2035 tầm nhìn đến năm 2050; Quyết định số 149/QĐ-TTg ngày 28/01/2022 phê duyệt Chiến lược quốc gia về Đa dạng sinh học đến năm 2030 tầm nhìn đến năm 2050. Một số tổ chức bảo tồn và các địa phương cũng có chương trình bảo tồn riêng cho các loài như Gấu, Bò tót, Sao la, Tê tê, các loài thú ăn thịt, Cá sấu, các loài chim di cư.

4.3.3. Chương trình bảo tồn các loài hoang dã

Bảo tồn tại chỗ: Theo Tổng cục Môi trường (2021), Việt Nam có 170 khu bảo tồn sinh thái, gồm 33 vườn quốc gia, 59 khu dự trữ thiên nhiên, 11 khu dự trữ sinh quyển thế giới, 13 khu bảo tồn loài và sinh cảnh và 54 khu bảo vệ cảnh quan với tổng diện tích khoảng 2,45 triệu ha. Hầu hết các loài bị đe dọa phân bố ở các khu bảo tồn hoặc hành lang đa dạng sinh học. Một số dự án thành lập mới khu bảo tồn loài và sinh cảnh để bảo vệ các loài nguy cấp, quý, hiếm như: Vượn cao vít ở Trùng Khánh, Nam Xuân Lạc, Voọc mũi hếch ở Khau Ca, Chế Tạo, Sao la ở Quảng Nam và Thừa thiên Huế, Sâm ngọc linh ở Quảng Nam, Voi ở Quảng Nam, Hương Nguyên, Đắk Uy, Ea Ral, Trấp Ksơ, Lung Ngọc Hoàng, Vườn chim Bạc Liêu, Sân chim Đầm Dơi.

Bảo tồn chuyển chỗ: Nhiều cơ sở cứu hộ và bảo tồn loài hoang dã đã được thành lập trên cả nước. Các cơ sở này tiếp nhận các mẫu thực vật và động vật hoang dã từ cơ quan thực thi pháp luật hoặc của người dân giao nộp để cứu hộ, phục hồi sức khoẻ và tập tính trong điều kiện nuôi nhốt hoặc bán tự nhiên, sau đó lại thả chúng trở lại môi trường thiên nhiên hoặc nuôi nhân đạo. Ngoài ra, cơ sở cứu hộ cũng được xem là nơi nghiên cứu các đặc điểm sinh học, sinh thái, xây dựng các quy trình trồng cấy, nuôi nhốt hay bán tự nhiên các loài hoang dã. Hiện có 26 cơ sở tiếp nhận các loài động vật, thực vật ở Việt Nam phân bố từ Bắc vào Nam, trong đó có Trạm Đa dạng sinh học Mê Linh của Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật.

4.3.4. Nhân nuôi sinh sản các loài hoang dã

Nhà nước có các chính sách khuyến khích nuôi trồng hợp pháp các loài hoang dã có giá trị kinh tế để đảm bảo sinh kế cho người dân, đồng thời giảm thiểu áp lực khai thác từ tự nhiên. Một số mô hình gây nuôi sinh sản các loài động vật hoang dã phục vụ mục đích thương mại như: Hươu sao (*Cervus nippon)* ở các tỉnh Hà Tĩnh, Nghệ An và Thanh Hoá để khai thác nhung làm dược liệu; Cá sấu nước ngọt (*Crocodylus siamensis*) để phục vụ ngành da giầy xuất khẩu; Trăn đất (*Python molurus*) để xuất khẩu da và thịt; Các loài Rắn hổ mang (*Naja* spp.) để lấy nọc và thịt; trồng Sâm ngọc linh (*Panax vietnamensis*) làm dược liệu tại các tỉnh Quảng Nam và Kon Tum.

Một số loài được nhân nuôi vì mục đích bảo tồn: Viện Hải dương học đã nghiên cứu và nhân nuôi sinh sản nhân tạo loài Cá ngựa thân trắng (*Hippocampus kellogi)*; Vườn thú Hà Nội nuôi sinh sản thành công loài Trĩ (*Lophura* sp.); Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật hợp tác với Vườn thú Cologe (CHLB Đức) đã nhân nuôi sinh sản loài Thằn lằn cá sấu (*Shinisaurus crocodilurus*) và một số loài Thạch sùng mí (*Goniurosaurus* spp.). Bộ sưu tập các loài lan cũng đang được nuôi trồng ở Trạm Đa dạng sinh học Mê Linh.

5. KHUYẾN NGHỊ ĐỂ TĂNG CƯỜNG HIỆU QUẢ BẢO TỒN CÁC LOÀI HOANG DÃ

5.1. Về mặt thể chế, chính sách, thực thi pháp luật

Trước hết cần thống nhất chế độ quản lý đối với các loài hoang dã theo mức độ ưu tiên bảo vệ, tương thích với công ước quốc tế, đồng bộ giữa Bộ luật hình sự và các luật chuyên ngành. Nhóm các loài đề xuất cần ban hành danh mục gồm: Nhóm I (ưu tiên bảo vệ, thuộc Nghị định số 64/2019/NĐ-CP), Nhóm II (các loài còn lại thuộc Nhóm I của Nghị định số

84/2021/NĐ-CP và Phụ lục I CITES), Nhóm III (các loài còn lại thuộc Nhóm II của Nghị định số 84/2021/NĐ-CP và Phụ lục II, III CITES); Nhóm các loài không cần ban hành danh mục gồm: Nhóm IV (động vật hoang dã thông thường nhưng chịu sự quản lý) và Nhóm V (động vật hoang dã khác).

Các hoạt động ưu tiên khác bao gồm: Tăng cường tuyên truyền, phổ biến quy định của pháp luật liên quan đến bảo tồn và phát triển các loài hoang dã; Tăng cường thực thi pháp luật liên quan đến các vi phạm về quản lý, bảo vệ các loài hoang dã, đặc biệt là buôn bán trái pháp luật; Tăng cường nhân lực chuyên trách về bảo tồn loài hoang dã ở các địa phương, nhất là ở cấp tỉnh; Tăng cường quản lý các cơ sở nuôi trồng thực vật và động vật hoang dã, đảm bảo tính hợp pháp và bền vững của lĩnh vực này.

5.2. Thực hiện Chiến lược Quốc gia về Đa dạng sinh học

Để thực hiện tốt Chiến lược quốc gia về Đa dạng sinh học đến năm 2030 tầm nhìn đến năm 2050 cần chú ý các vấn đề sau:

Căn cứ vào quy hoạch da dạng sinh học quốc gia để xác định rõ các địa điểm ưu tiên, đối tượng ưu tiên và hoạt động ưu tiên. Trên cơ sở đó, phân bổ nguồn lực (nhân lực, tài chính) theo mức độ ưu tiên từ cao xuống thấp. Quy hoạch đa dạng sinh học quốc gia và ở các địa phương cũng đã xem xét khả năng thiết lập và liên kết của hành lang đa dạng sinh học giữa các khu bảo tồn, giữa các vùng hoặc xuyên biên giới. Việc thực hiện đúng quy hoạch sẽ tạo cơ hội cho phục hồi đa dạng sinh học.

Huy động nguồn lực tài chính, đa dạng hóa và đảm bảo được mục tiêu đầu tư lâu dài và có trọng điểm cho bảo tồn các loài hoang dã. Nâng cao trách nhiệm của cộng đồng trong bảo tồn tài nguyên để phục vụ phát triển bền vững như nhân rộng mô hình chi trả dịch vụ môi trường rừng ra các dạng hệ sinh thái khác.

Có các chính sách cụ thể để khai thác và sử dụng bền vững tài nguyên sinh vật, đảm bảo phát triển kinh tế xanh, bền vững hài hòa với bảo tồn thiên nhiên.

Bên cạnh đó, cũng cần lưu ý quản lý chặt chẽ các nguồn gây ô nhiễm môi trường, đặc biệt là môi trường nước và kiểm soát việc nhập nội các loài ngoại lai.

5.3. Công tác nghiên cứu, bảo tồn và phát triển các loài hoang dã

Chúng tôi đề xuất một số hoạt động ưu tiên như sau:

Xây dựng và cập nhật thông tin về cơ sở dữ liệu đa dạng sinh học quốc gia. Thường xuyên cập nhật, bổ sung Danh lục Đỏ Việt Nam để làm cơ sở khoa học cho công tác bảo tồn loài.

Thực hiện các chương trình bảo tồn tại chỗ, đảm bảo hiệu quả thực thi pháp luật nhưng cũng phù hợp với lợi ích chung của cộng đồng địa phương thông qua các chương trình bảo tồn có sự tham gia của cộng đồng, sử dụng bền vững tài nguyên, nâng cao giá trị dịch vụ sinh thái như phát triển du lịch xanh, vườn rừng.

Thành lập mới một số cơ sở bảo tồn đa dạng sinh học ở khu vực Tây Bắc và Tây Nguyên. Duy trì và nâng cấp các cơ sở bảo tồn hiện có, tìm nguồn đầu tư cho các chương trình bảo tồn chuyển chỗ thông qua nguồn xã hội hóa hoặc hợp tác quốc tế.

Nghiên cứu, dự báo và đề xuất các giải pháp giảm thiểu ảnh hưởng của biến đổi khí hậu đến các loài hoang dã, đặc biệt là các loài phân bố hẹp, các loài chuyên biệt về điều kiện sinh thái.

Nghiên cứu giải pháp phòng trừ các loài ngoại lai, phòng chống dịch bệnh trên các loài hoang dã và phòng tránh lây lan dịch bệnh từ động vật hoang dã sang người.

Nghiên cứu, đề xuất mô hình và quy mô thuần hóa và phát triển các loài hoang dã có giá trị dược liệu và kinh tế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. IUCN. http://www.iucnredlist.org/apps/redlist/search (accessed December 20, **2024**).
2. Conservation International (CI). https://www.conservation.org/priorities/biodiversity-hotspots, **2021**.
3. N. Myers, R. A. Mittermeier, C. G. Mittermeier, G. A. B. da Fonseca & J. Kent. Biodiversity hotspots for conservation priorities, *Nature*, **2000**, *403*, 853-858.
4. World Population Review. https://worldpopulationreview.com, **2024**.
5. Nguyễn Quảng Trường và cs. Danh lục Đỏ Việt Nam. http://vnredlist.vast.vn/ **2024**.
6. Bộ Khoa học và Công nghệ, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Danh lục Đỏ Việt Nam. Nhà xuất bản Khoa học tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội, **2007**.
7. Chính phủ nước CHXHCN Việt Nam. http://chinhphu.vn/portal/page/portal/chinhphu/trangchu. (tra cứu tháng 12/2024).
8. Bộ Tài nguyên và Môi trường. Báo cáo Đa dạng sinh học quốc gia. Hà Nội, **2022**.
9. Nguyễn Quảng Trường, Ngô Đắc Chứng, Lê Hùng Anh, Phạm Thị Nhị, Nguyễn Trường Sơn. Giáo trình phương pháp điều tra và giám sát đa dạng sinh học động vật. Nhà xuất bản Khoa học tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội, 291 trang, **2020**.
10. J. Janssen, R. A. Indenbaum. Endemic Vietnamese reptiles in commercial trade, *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, **2019**, *12*, 45-48.
11. Báo cáo Hội thảo về thực thi Công ước CITES. Khắc phục tồn tại, bất cập trong thực hiện chính sách pháp luật về thực thi Công ước CITES. Nha Trang, 16/4/2021.
12. Cục Kiểm lâm. http://www.kiemlam.org.vn (tra cứu tháng 12/2024).
13. Dự án BIODEV 2030. Đánh giá đa dạng sinh học ở Việt Nam: phân tích tác động từ một số lĩnh vực kinh tế, WWF, 143 trang, **2021**.
14. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES). https://www.cites.org (accessed December 20, **2024**).
15. Lê Trung Dũng, Nguyễn Lân Hùng Sơn, Bùi Thu Hà, Nguyễn Quảng Trường. Sinh vật ngoại lai xâm hại ở tỉnh Hải Dương. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 79 trang, **2020**.
16. M. B. Martel, C. Adriaensen, P. Van Rooij, W. Beukema, M. C. Fisher, R. A. Farrer, B. R. Schmidt, U. Tobler, K. Goka, K. R. Lips, C. Muletz, K. R. Zamudio, J. Bosch, S. Lötters, E. Wombwell, T. W. J. Garner, A. A. Cunningham, A. Spitzen-van der Sluijs, S. Salvidio, R. Ducatelle, K. Nishikawa, T. T. Nguyen, J. E. Kolby, I. Van Bocxlaer, F. Bossuyt, F. Pasmans. Recent introduction of a chytrid fungus endangers Western *Palearctic salamanders*, *Science*, **2014**, *346*, 6209, 630-631.
17. B. Spevack. Animal smuggling in air transport and preventing zoonotic spillover. Report, 19 pp., **2020**.
18. The Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). https://www.ipcc.ch (accessed December 20, 2024).

19. Convention on Biological Diversity (CBD). http://www.cbd.int/gspc/ (accessed December 20, 2024).

20. Tổng cục Môi trường. http://vea.gov.vn, **2021**.

21. Thủ tướng Chính phủ. Quyết định số 149/QĐ-TTg ngày 28/01/2022 phê duyệt Chiến lược Quốc gia về Đa dạng sinh học đến năm 2030, tầm nhìn đến năm 2050.

Liên hệ: **Nguyễn Quảng Trường**
Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: truongiebr@gmail.com.

STUDY ON CHEMICAL CONSTITUENTS OF *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. (Orchidaceae)

Tran Thi Ngoc Hanh, Pham Van Huyen, Nguyen Thi Thu Hien, Nguyen Thi Dieu Thuan, Nguyen Huu Huong Duyen, Nguyen Huu Toan Phan*

Tay Nguyen Institute of Scientific Research, Vietnam Academy of Science and Technology, 116, Xo Viet Nghe Tinh, Da Lat, Lam Dong, Vietnam

Received 10 Feb 2025; Revised 20 Feb 2025; Accepted 1 Mar 2025

Abstract

(3*S*)-hydroxy-γ-butyrolactone (**1**) and two stereoisomers of butyrolactone, 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(3*R*)-hydroxy-butyrolactone (kinsenoside) (**2**) and 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(3*S*)-hydroxy-butyrolactone (goodyeroside A) (**3**), along with four another known compounds, including loroglossin (**4**), gallic acid (**5**), methyl *β*-D-glucopyranoside (**6**), D-(+)-sucrose (**7**) isolated from the methanol extract of whole plant of *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. (Orchidaceae) by various chromatographic techniques. The structures of these compounds (**1**-**7**) were elucidated by 1D and 2D NMR spectroscopic interpretation as well as comparisons to previously published values.

Keywords: *Anoectochilus roxburghii*, (3*S*)-hydroxy-γ-butyrolactone kinsenoside, goodyeroside A, loroglossin, gallic acid, methyl *β*-D-glucopyranoside, D-(+)-sucrose.

1. INTRODUCTION

The genus *Anoectochilus*, classified within the Cranichidea tribe of the Orchidaceae family, comprises approximately 40 species of terrestrial orchids, primarily found in tropical and subtropical regions across Asia and the Pacific Islands. Several species from this genus, including *A. roxburghii* (Wall.) Lindl., *A. koshunensis* Hayata, *A. formosanu*s Hayata are traditionally used in Chinese herbal medicine.[1]

One of the most renowned species, *A. roxburghii* (Wall.) Lindl., commonly known as the "*jewel orchid"* due to its striking purplish-red reticulation, is a wild edible species that is found in China, India, Bhutan, Nepal, Myanmar, Bangladesh, Japan, Thailand, Laos, and Vietnam. This plant holds a prominent position in traditional Chines medicine, where it is referred to as "King medicine" due to its diverse therapeutic properties. It is valued for its ability to treat various ailments, including livers disorders, cancer, cardiovascular diseases, diabetes.[2-6] Phytochemical investigation of *A. roxburghii* have revealed several bioactive compounds, including polysaccharides, phenolics, flavonoids, triterpenoids, amino acids, alkaloids, organic acids, and phytosterols.[3-6] Furthermore, kinsenoside, a pharmacologically active compound found in *A. roxburghii*, has been shown to have hepatoprotective, anti-hyperglycemic, anti-hyperliposis, anti-inflammatory, vascular protective, and anti-osteoporosis properties.[7,8] In the present study, we describe the isolation and structural elucidation of 3-hydroxybutanolide derivatives, as well as four another known compounds from *A. roxburghii*, which was collected in Lam Dong province, Vietnam.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. General experimental procedures

NMR spectra were recorded on Bruker AVANCE III HD and AvanceNEO spectrometer (Bruker, Billerica, MA, USA) using TMS as an internal standard. ESI-MS were measured on an Agilent 1100 LC/MS system. Column chromatography (CC) was carried out on silica gel

(230-400 mesh, Merck), C18-reversed phase silica gel (100 Å pore size, Fluka), and Sephadex LH-20 gel (25-100 µm, Pharmacia Fine Chemical Co. Ltd.). Thin-layer chromatography (TLC) used pre-coated silica gel 60 F_{254} (1.05554.0001, Merck) and RP-18 F_{254S} plates (1.15685.0001, Merck), and compounds were visualized by spraying with 10% aqueous H_2SO_4 and heating for 3-5 min.

2.2. Plant material

The whole plants of *A. roxburghii* were collected at Lac Duong district, Lam Dong province, Vietnam, in July 2020 and identified by Dr. Nong Van Duy from the Tay Nguyen Institute for Scientific Research, VAST.

2.3. Extraction and isolation

The fresh whole plants of *A. roxburghii* (2.9 kg) were extracted with methanol 96% (3 times × 10 L) at room temperature. The combined methanol extracts were evaporated under reduced pressure to achieve a residue (114.0 g). The residue was suspended in water (2L) and then partitioned in turn with *n*-hexane, chloroform, and ethyl acetate to obtain corresponding extracts: *n*-hexane (12.3 g), chloroform (24.3 g), ethyl acetate (2.0 g), and water layer (2L, W).

The chloroform extract (24.3 g) was subjected to silica gel chromatography column (CC) with a stepwise gradient elution of chloroform/methanol (1:0 to 0:1, v/v) to yield six fractions, C1-C6. Fraction C4 (6.5 g) was fractionated by silica gel CC with chloroform/methanol/water (2:1:0.1, v/v/v) to yield seven subfractions, C4A-C4G. Subfraction C4F (1.1 g) was separated using RP-18 column chromatography, eluted with methanol/water (1:1, v/v) to yield five subfractions, C4F1-C4F5. Subfraction C4F2 (709 mg) was further purified by silica gel CC eluting with $CHCl_3$/MeOH (3:1, v/v), and subsequently purified by Sephadex LH-20 column using methanol/water (1:9, v/v) as elution to afford compound **6** (15 mg). Subfraction C4G (2.0 g) was separated by silica gel CC eluting with chloroform/methanol (5:1, v/v) to give eight subfractions, C4G1-C4G8. Subfraction C4G6 (170 mg) was purified by RP-18 CC eluting with methanol/water (1:2) and purified by silica gel CC using chloroform/methanol/water (1.5:1:0.1, v/v/v) to afford compound **7** (20 mg).

The ethyl acetate extract (2.0 g) was subjected to silica gel CC with a stepwise gradient elution of chloroform/methanol (1:0 to 0:1, v/v), resulting in five fractions, E1-E5. Fraction E4 (340 mg) was further separated by Sephadex LH-20 CC eluted with methanol/water (1:4, v/v) to give five subfractions, E4A-E4E. Subfraction E4D (220 mg) continued subjected to a silica gel CC eluted with chloroform/methanol (9:1, v/v) to give six subfractions, E4D1-E4D6. Subfraction E4D5 (123 mg) purified by RP-18 CC using methanol/water (1:4, v/v) to afford compound **5** (20 mg).

The water layer (W) was passed through Diaion HP-20 CC and eluted first with water and then with methanol/water (1:3 to 1:0, v/v) to give five fractions, W1-W5. Fraction W2 (7.1 g) continued separate on silica gel CC eluted with chloroform/methanol (stepwise 3:1, 2:1, 1:1, v/v) to give seven subfractions, W2A-W2G. Subfraction W2F (848 mg) was subjected to chromatography on silica gel CC with chloroform/ethyl acetate (5:2, v/v) to give six subfractions, W2F1-W2F6. Subfraction W2F3 (53 mg) was purified by RP-18 CC with methanol/water (1:9, v/v) to afford compound **1** (10 mg). Subfraction W2F5 (65 mg) was recrystallized in methanol to obtain compound **2** (15 mg). Subfraction W2G (386 mg) was separated by Sephadex LH-20 CC eluted with methanol/water (0:1 to 1:0, v/v) to give six subfractions, W2G1-W2G6. Subfraction W2G5 (129 mg) was subjected to silica gel CC eluted with C chloroform/methanol (3:1, v/v) and purified by RP-C18 CC eluted with methanol/water (1:1, v/v) to yield compound **3** (32 mg).

Fraction W4 (816 mg) was separated on silica gel CC with stepwise gradient elution of chloroform/methanol (5:1, 3:1, 1:1, v/v), resulting in nine subfractions, W4A-W4I. Subfraction W4C (73 mg) was purified by RP-18 column with methanol/water (1:1, v/v) to give six subfractions, W4C1-W4C6. Subfraction W4C4 (40 mg) was subjected by silica gel CC with chloroform/methanol (3:1, v/v) and purified by Sephadex LH-20 CC with methanol/water (3:7, v/v) to afford compounds **4** (11 mg).

(3*S*)-hydroxy-γ-butyrolactone (1):[9, 10] Colorless oil; $[\alpha]_D^{20}$ -82.81 (c 0.24, EtOH). ESI-MS *m/z* 103.0 $[M+H]^+$. ^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD) and ^{13}C-NMR (CD_3OD, 150 MHz), see table 1.

Kinsenoside (2):[11] Colorless oil; $[\alpha]_D^{20}$ +53.18 (c 2.2, MeOH). ESI-MS *m/z* 309.1 $[M+HCOO]^-$. ^{1}H-NMR (CD_3OD, 500 MHz) and ^{13}C-NMR (CD_3OD, 125 MHz), see table 1.

Goodyeroside A (3):[12] White crystals; $[\alpha]_D^{20}$ -71.05 (c 0.5, H_2O). ESI-MS *m/z* 309.1 $[M+HCOO]^-$. ^{1}H-NMR (CD_3OD, 500 MHz) and ^{13}C-NMR (CD_3OD, 125 MHz), see table 1.

Loroglossin (4):[13] White crystals; $[\alpha]_D^{20}$ -28.00 (c 0.23, MeOH). ESI-MS *m/z* 765.0 $[M+Na]^+$. ^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H (ppm): 4.36 (1H, s, H-3), 1.70 (1H, m, H_a-5), 1.67 (1H, m, H-6), 1.90 (1H, dd, *J* = 14.1, 6.1 Hz, H_b-5), 0.79 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-7), 0.93 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-8), 5.08 (1H, d, *J* = 11.8 Hz, H_a-1'), 4.98 (1H, d, *J* = 11.8 Hz, H_b-1'), 7.19 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3', H-7'), 7.08 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-4', H-6'), 4.91 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, H_a-1'''), 4.78 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, H_b-1'''), 7.10 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-4''', H-6'''), 7.30 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3''', H-7'''), 3.41 (2H, m, H-4'', H-4''''), 3.45 (2H, m, H-3'', H-3''''), 3.47 (2H, m, H-2'', H-2''''), 3.48 (2H, m, H-5'', H-5''''), 3.71 (1H, dd, *J* = 12.2, 2.4 Hz, H_a-6''), 3.73 (1H, dd, *J* = 12.2, 5.4 Hz, H_b-6''), 3.88 (1H, dd, *J* = 12.2, 2.4 Hz, H_a-6''''), 3.91 (1H, dd, *J* = 12.2, 5.4 Hz, H_b-6''''), 4.89 (2H, d, 7.8 Hz, H-1'', H-1''''). ^{13}C-NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C (ppm): 174.7 (C-1), 81.0 (C-2), 77.4 (C-3), 172.6 (C-4), 45.2 (C-5), 25.2 (C-6), 24.6 (C-7), 23.4 (C-8), 68.0 (C-1'), 130.6 (C-2'), 131.2 (C-3', C-7'), 117.8 (C-4', C-6'), 159.2 (C-5'), 102.3 (C-1''), 74.9 (C-2''), 77.9 (C-3''), 71.4 (C-4''), 78.1 (C-5''), 62.5 (C-6''), 68.1 (C-1'''), 130.6 (C-2'''), 131.6 (C-3''', C-7'''), 117.9 (C-4''', C-6'''), 159.4 (C-5'''), 102.4 (C-1''''), 74.9 (C-2''''), 77.9 (C-3''''), 71.4 (C-4''''), 78.1 (C-5''''), 62.5 (C-6'''').

Gallic acid (5):[3] White crystals; ESI-MS: *m/z* 168.8 $[M-H]^-$, *m/z* 341.2 $[M+M+H]^+$. ^{1}H-NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_H (ppm): 7.08 (2H, s, H-2, H-6). ^{13}C-NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_C (ppm): 122.0 (C-1), 110.4 (C-2, C-6), 146.4 (C-3, C-5), 139.6 (C-4), 179.4 (C-7).

Methyl β-D-glucopyranoside (6):[14] Colorless oil; $[\alpha]_D^{20}$ -35.00 (c 4.0, H_2O). ESI-MS: *m/z* 195.0 $[M+H]^+$, ^{1}H-NMR (CD_3OD, 600 MHz) δ_H (ppm): 4.19 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1), 3.18 (1H, dd, *J* = 9.0, 7.8 Hz, H-2), 3.33 (1H, m, H-3), 3.32 (1H, m, H-4), 3.37 (1H, m, H-5), 3.89 (1H, dd, *J* = 12.0, 1.8 Hz, H_a-6), 3.69 (1H, dd, *J* = 12.0, 5.4 Hz, H_b-6), 3.55 (3H, s, OCH_3). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ_C (ppm): 105.4 (C-1), 75.0 (C-2), 78.0 (C-3), 71.6 (C-4), 77.9 (C-5), 62.7 (C-6), 57.3 (OCH_3).

D-(+)-sucrose (7):[15] Colorless oil; $[\alpha]_D^{20}$ +66.48 (c 0.5, H_2O). ESI-MS: *m/z* 386.8 $[M+HCOO]^-$, ^{1}H-NMR (CD_3OD, 600 MHz) δ_H (ppm): 3.78 (2H, s, H-1), 4.12 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-3), 4.05 (1H, t, *J* = 7.2 Hz, H-4), 3.79 (1H, m, H-5), 3.67 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, H_a-6), 3.62 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, H_b-6), 5.41 (1H, d, *J* = 3.6 Hz, H-1'), 3.45 (1H, dd, *J* = 9.6, 3.6 Hz, H-2'), 3.72 (1H, t, *J* = 9.6 Hz, H-3'), 3.38 (1H, t, *J* = 9.6 Hz, H-4'), 3.85 (1H, m, H-5'), 3.82 (1H, m, H_a-6'), 3.74 (1H, m, H_b-6'). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C (ppm): 63.4 (C-1), 105.3 (C-2), 79.4 (C-3), 75.7 (C-4), 83.8 (C-5), 64.1 (C-6), 93.6 (C-1'), 74.4 (C-2'), 74.7 (C-3'), 73.2 (C-4'), 71.3 (C-5'), 62.2 (C-6').

3. RESULTS AND DISCUSSION

Compound **1** was obtained as a colorless oil. The ESI-MS spectrum of **1** showed the pseudomolecular ion peak at *m/z* 103.0 $[M+H]^+$. The ^{1}H-NMR of **1** showed signals for one oxymethine proton at δ_H 4.58 (ddt, J = 5.9, 4.3, 1.4 Hz, H-3), two oxymethylene protons at δ_H 4.44 (dd, J = 10.0, 4.3 Hz, H_a-4) and 4.23 (dt, J = 10.0, 1.4 Hz, H_b-4), and two protons of one methylene group at δ_H 2.83 (dd, J = 17.7, 5.9 Hz, H_a-2) and 2.38 (dt, J = 17.7, 1.4 Hz, H_b-2). The ^{13}C-NMR spectrum combined with the DEPT and HSQC spectra indicated that **1** had four carbons at δ_C 179.1 (C-1), 38.5 (C-2), 68.4 (C-3), and 77.7 (C-4). The NMR data analysis of **1** revealed a 3-*O*-substituted γ-butyrolactone skeleton. Based on these spectroscopic data and comparison with the literature, compound **1** was identified as (3*S*)-hydroxy-γ-butyrolactone.[9]

Compound **2** was isolated as a colorless oil. The ESI-MS spectrum of **2** showed the pseudomolecular ion peak at *m/z* 309.1 $[M+HCOO]^-$, corresponding to a molecular weight of 264. The ^{1}H-NMR spectrum revealed the following signals: δ_H 4.74 (1H, m, H-3), 4.48 (2H, m, H-4), 2.90 (1H, dd, J = 18.5, 6.5 Hz, H_a-2), 2.74 (1H, dd, J = 18.5, 1.0 Hz, H_b-2), while the ^{13}C NMR spectrum showed the signals at δ_C 178.9 (C-1), 37.0 (C-2), 76.0 (C-3), 75.3 (C-4). These data indicated that compound **2** contained a 3-*O*-substituted γ-butyrolactone moiety, similar to compound **1**, but with the hydroxy group at C-3 replaced by a glucopyranose unit. The glucopyranose was confirmed by the following ^{13}C-NMR signals: δ_C 103.7 (C-1'), 74.8 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.5 (C-4'), 77.9 (C-5'), and 62.7 (C-6') alongside ^{1}H-NMR signals at δ_H 4.41 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1'), 3.20 (1H, m, H-2'), 3.33 (1H, m, H-3'), 3.31 (1H, m, H-4'), 3.37 (1H, m, H-5'), 3.89 (1H, dd, J = 12.0, 1.5 Hz, H_a-6'), and 3.69 (1H, m, H_b-6'). The HMBC spectrum showed correlations between anomeric proton at δ_H 4.41 (H-1') of glucosyl and carbon C-3 at δ_C 76.02 of aglycone, confirming the attachment of β-D-glucopyranose at C-3 position of the 3-*O*-substituted γ-butyrolactone. The sugar moiety was determined to have a β-configuration, with a coupling constant of J = 8.0 Hz. By comparison with published data,[11] the structure of compound **2** was identified as 3-*O*-β-D-glucopyranosyl-(3*R*)-hydroxy-butyrolactone, also known as kinsenoside.

Compound **3** was isolated as white crystals and share the same molecular weight of 264 as compound **2**, with the molecular fomula $C_{10}H_{16}O_8$. The ^{1}H and ^{13}C-NMR signals along with the coupling patterns in the spectra of compound **3**, closely resemble those of compound **2**, indicating that the two compounds are epimers. An anomeric proton signal at δ_H 4.38 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1') in the ^{1}H-NMR spectrum of compound **3** indicated a glucosyl anomeric proton, confirming that the sugar has a β-configuration. In the HMBC spectrum, the anomeric proton H-1' correlated with C-3 (δ_C 76.3). Based on detailed analysis of the NMR spectra and comparison with previously published data,[12] compound **3** was identified as 3-*O*-β-D-glucopyranosyl-(3*S*)-hydroxy-butyrolactone or goodyeroside A.

Compound **4** was obtained as white crystals. The ESI-MS spectrum of compound **4** displayed an ion peak at *m/z* 765.0 $[M+Na]^+$, corresponding to a molecular mass of 742, which aligns with the predicted molecular formula $C_{34}H_{46}O_{18}$. The ^{1}H and ^{13}C-NMR revealed signals consistent with a 2-isobutylmalate skeleton, with two methyl groups at δ_H 0.93 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-8)/δ_C 24.0 (C-8) and δ_H 0.79 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-7)/δ_C 24.6 (C-7), a methylene groups at δ_H 1.90 (1H, dd, J = 14.1, 6.1 Hz), 1.70 (1H, m), H-5/δ_C 45.2 (C-5), two methine groups at δ_H 4.36 (1H, s, H-3)/δ_C 77.4 (C-3), and δ_H 1.67 (1H, m, H-6)/δ_C 25.2 (C-6). These data confirmed the presence of a 2-isobutylmalate group. Additionally, the signal of two other methylene groups appears at δ_H 5.08, 4.98 (1H each, d, J = 11.8 Hz, H-1')/δ_C 68.1 (C-1'), and δ_H 4.91, 4.78 (1H each, d, J = 8.0 Hz, H-1''')/δ_C 68.0 (C-1'''). The NMR spectrum of **4** showed signals corresponding to two *para*-substituted benzene rings, indicated by

doublets at δ_H 7.30 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3''', H-7'''), 7.10 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-4''', H-6''') and δ_H 7.19 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3', H-7'), 7.08 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-4', H-6'). Moreover, the presence of two anomeric protons as a doublet at δ_H 4.89 (2H, dd, *J* = 7.8 Hz, H-1", H-1"") suggested that **4** possesses two β-glucopyranosyl moieties. The HMBC correlations confirmed the attachment of the benzyl groups at C-1 and C-4 of the 2-isobutylmalate skeleton with H-1' (δ_H 5.08, 4.98 (1H each, d, *J* = 11.8 Hz)) correlating to C-4 (δ_H 172.6) and C-2' (δ_C 130.6), and H-1''' (δ_H 4.91, 4.78 (1H each, d, *J* = 8.0 Hz)) correlating to C-1 (δ_H 174.7) and C-2''' (δ_C 130.6). The β-glucopyranosyl moieties were linked to C-5' and C-5" of the two benzyl groups, supported by the HMBC correlations between H-1" and H-1"" (δ_H 4.89) with C-5' (δ_C 159.4) and C-5''' (δ_C 159.2), respectively. Based on these NMR spectra and comparison with reported spectral data,[13] compound **4** was identified as loroglossin.

Compound **5** was isolated as a white crystals. The molecular formula was established as $C_7H_6O_5$ by ESI-MS data with ion peak at *m/z* 168.8 $[M-H]^-$ and *m/z* 341.2 $[M+M+H]^+$. The ^{1}H-NMR spectrum of **5** displayed a singlet of two aromatic protons at δ_H 7.08 (2H, s, H-2, H-6). Moreover, the ^{13}C NMR and DEPT spectra of **5** presented signals of 6 carbons of a aromatic ring at δ_C 122.0 (C-1), 110.4 (C-2, C-6), 146.4 (C-3, C-5), 139.6 (C-4), and a carboxyl group at δ_C 179.6 (C-7). Based on NMR spectroscopic data and comparison with literature data [3] the structure of **5** was determined to be gallic acid.

Compound **6** was obtained as a colorless oil. The ESI-MS spectrum exhibited an ion peak at *m/z* 195.0 $[M+H]^+$, corresponding to the predicted molecular fomular $C_7H_{14}O_6$. The ^{1}H-NMR spectrum showed characteristic signals of the glucopyranoside surgar moiety, with the anomeric proton at δ_H 4.19 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1) and the signals for methines groups at δ_H 3.18 (1H, dd, *J* = 9.0, 7.8 Hz, H-2), 3.33 (1H, m, H-3), 3.32 (1H, m, H-4), 3.37 (1H, m, H-5), 3.89 (1H, dd, *J* = 12.0, 1.8 Hz, H_a-6) and 3.69 (1H, dd, *J* = 12.0, 5.4 Hz, H_b-6), and a signal for a methoxy group at δ_H 3.55 (3H, s, OCH_3). The ^{13}C NMR and DEPT spectrum presented signals of seven carbons, including five methine carbons, 1 methyl carbon, and a methoxy carbon. The signals for the surger moiety appear at δ_C 105.4 (C-1), 75.0 (C-2), 78.0 (C-3), 71.6 (C-4), 77.9 (C-5), 62.7 (C-6), and a methoxy at δ_C 57.3. Moreover, the sugar moiety was determined to have a β-configuration, with a coupling constant of *J* = 7.8 Hz. By comparing the NMR spectral values with previously published literature,[14] compound **6** was identified as methyl β-D-glucopyranoside.

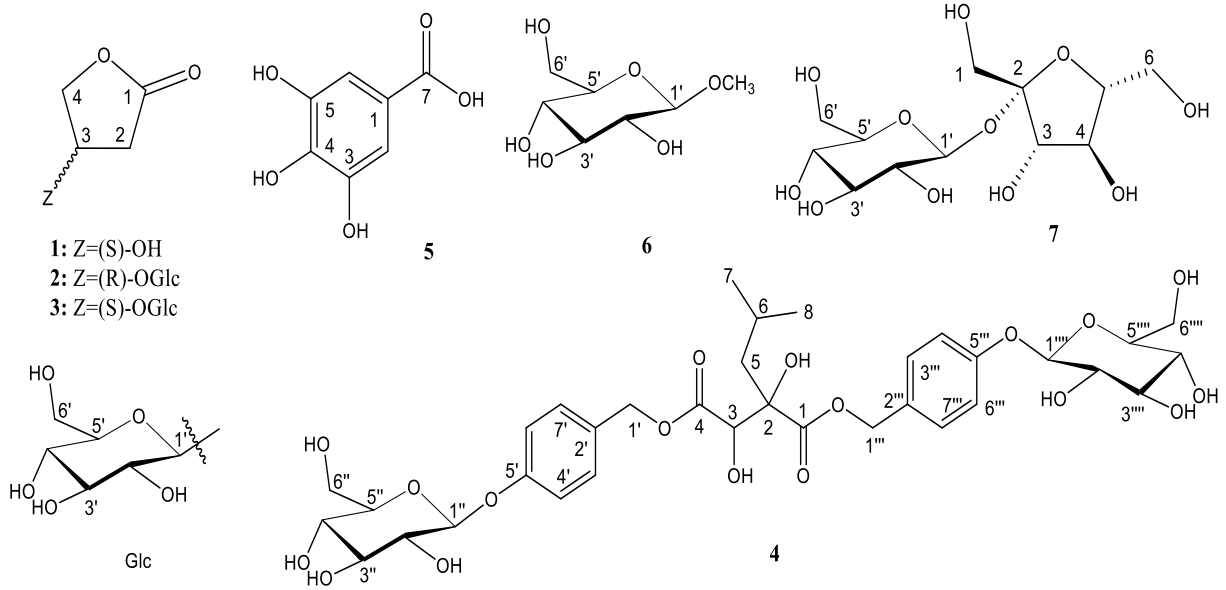


Figure 1. Chemical structures of compounds **1-7**

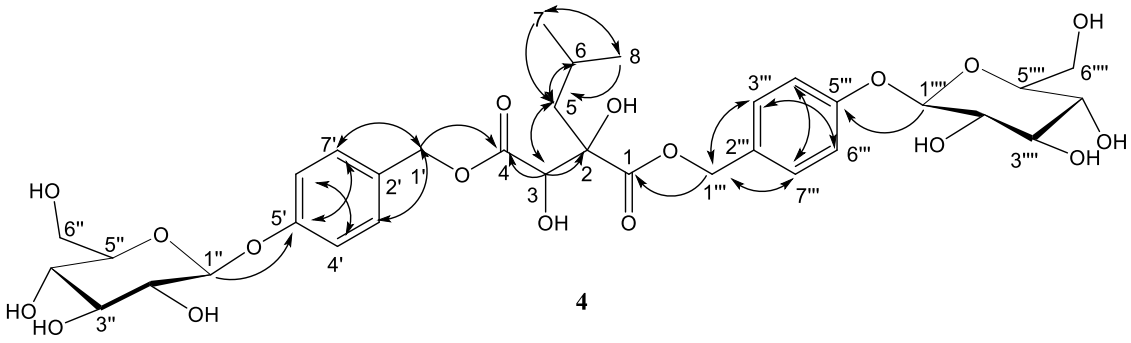


Figure 2. The key HBMC correlations of compound **4**

Compound **7** was isolated as a colorless oil. Its molecular fomular was established to be $C_{12}H_{22}O_{11}$ based on an ion peak at *m/z* 386.8 $[M+HCOO]^-$. The NMR data of **7** revealed the presence of two sugar moieties. In the ^1H, ^{13}C-NMR and HSQC spectra, a set of carbon signals at δ_H 3.78 (H-1)/δ_C 63.4 (C-1), δ_C 105.3 (C-2), δ_H 4.12 (H-3)/δ_C 79.4 (C-3), δ_H 4.05 (H-4)/δ_C 75.7 (C-4), δ_H 3.79 (H-5)/δ_C 83.8 (C-5), and δ_H 3.67 (H_a-6) and 3.62 (H_b-6)/δ_C 64.06 (C-6) were assigned for the fructofuranosyl unit, while signals at δ_H 5.41 (H-1')/δ_C 93.6 (C-1'), δ_H 3.45 (H-2')/δ_C 73.2 (C-2'), δ_H 3.72 (H-3')/δ_C 74.7 (C-3'), δ_H 3.38 (H-4')/δ_C 71.3 (C-4'), δ_H 3.85 (H-5')/δ_C 74.4 (C-5'), δ_H 3.82 (H_a-6') and 3.74 (H_b-6')/δ_C 62.2 (C-6') and were assigned for the glucopyranosyl sugar, which matched well with a sucrose unit. The HMBC data also confirmed the correlation between the proton H-1' and carbon C-2. The small coupling constant of the anomeric proton of the glucose unit J = 3.6 Hz, indicating that the sugar linkage must be in the α-configuration. These spectroscopic data were consistent with those previously published.[15] Thus, the structure of compound **7** was assigned as D-(+)-succrose.

Table 1. The NMR data of compounds **1-3**

	1		**2**		**3**	
C	**δ_C[a,d] (ppm)**	**δ_H[a,e] (ppm) (*J* in Hz)**	**δ_C[a,b] (ppm)**	**δ_H[a,c] (ppm) (*J* in Hz)**	**δ_C[a,b] (ppm)**	**δ_H[a,c] (ppm) (*J* in Hz)**
1	179.1		178.9		178.6	
2	38.5	2.83 dd (17.7, 5.9) 2.38 dt (17.7, 1.4)	37.0	2.90 dd (18.5, 6.5) 2.74 dd (18.5, 1.0)	36.0	2.87 dd (18.5, 6.5) 2.66 dd (18.5, 1.0)
3	68.4	4.58 ddt (5.8, 4.3, 1.4)	76.0	4.73 m	76.3	4.73 m
4	77.7	4.44 dd (10.0, 4.3) 4.23 dt (10.0, 1.4)	75.3	4.48 m	76.2	4.53 m
1'			103.7	4.41 d (8.0)	103.9	4.38 d (8.0)
2'			74.8	3.20 m	74.8	3.20 m
3'			78.1	3.33 m	78.1	3.33 m
4'			71.5	3.31 m	71.5	3.31 m
5'			77.9	3.37 m	77.9	3.36 m
6'			62.7	3.89 dd (12.0, 1.5) 3.69 m	62.7	3.89 dd (12.0, 1.5) 3.69 m

Measured in [a]CD_3OD, [b]125 MHz, [c]500 MHz,[d]150 MHz, [e]600 MHz.

4. CONCLUSION

The present study reported the isolation and structural identification of seven compounds from the methanol extract of the whole plant of *A. roxburghii*. These compounds were (3*S*)-hydroxy-γ-butyrolactone (**1**), kinsenoside (**2**), goodyeroside A (**3**), loroglossin (**4**), gallic acid (**5**), methyl β-D-glucopyranoside (**6**), D-(+)-sucrose (**7**). The structures of these compounds were determined using advanced NMR spectroscopic techniques and by comparing the data with published literature. This study contributes to the understanding of the chemical constituents of *A. roxburghii* collected in Lam Dong province, Vietnam.

Acknowledgements. This work was financially supported by the Vietnam national project of the Tay Nguyen 3 Program in the period 2016-2020 (code: TN18/C09).

REFERENCES

1. R. M. P. Gutiérrez. Orchids: A review of uses in traditional medicine, its phytochemistry and pharmacology, *J. Med. Plant. Res.*, **2010**, *4*(8), 592-638.
2. A. Bhattacharjee. A note on the identity of *Anoectochilus roxburghii* (Orchidaceae), *McAll. Int. Orch. Soc. J.*, **2013**, *14*, 8-13.
3. S. C. Cui, J. Yu, X. H. Zhang, M. Z. Cheng, L. W. Yang, J. Y. Xu. Antihyperglycemic and antioxidant activity of water extract from *Anoectochilus roxburghii* in experimental diabetes, *Exp. Toxicol. Pathol.*, **2013**, *65*(5), 485-488.
4. Q. Shao, Y. Deng, H. Liu, A. Zhang, Y. Huang, G. Xu, M. Li. Essential oils extraction from *Anoectochilus roxburghii* using supercritical carbon dioxide and their antioxidant activity, *Ind. Crops. Prod.*, **2014**, *60*, 104-112.
5. C. N. He, C. L. Wang, S. X. Guo, J. S. Yang, P. G. Xiao. A Novel Flavonoid Glucoside from *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl, *J. Integr. Plant. Biol.*, **2006**, *48*(3), 359-363.
6. M. H. Han, X. W. Yang, Y. P. Jin. Novel triterpenoid acyl esters and alkaloids from *Anoectochilus roxburghii*, *Phytochem. Anal.*, **2008**, *19*(5), 438-443.
7. C. X. Qi, Q. Zhou, Z. Yuan, Z. W. Luo, C. Dai, H. C. Zhu, C. M. Chen, Y. Xue, J. P. Wang, Y. Wang, Y. P. Liu, M. Xiang, W. G. Sun, J. W. Zhang, Y. H. Zhang. Kinsenoside: A Promising Bioactive Compound from Anoectochilus Species, *Curr. Med. Sci.*, **2018**, *38*(1), 11-18.
8. Q. Liu, W. Ha, Z. Liu, J. Xu, Y. Tian, X. Zhou, X. Mu. 3-Hydroxybutanolide derivatives and flavonoid glucosides from *Anoectochilus roxburghii*, *Phytochem. Lett.*, **2014**, *8*, 109-115.
9. Y. Zhang, Y. Xia, Y. Lai, F. Tang, Z. Luo, Y. Xue, G. Yao, Y. Zhang, J. Zhang. Efficient Synthesis of kinsenoside and goodyeroside A by a Chemo-Enzymatic Approach, *Molecules*, **2014**, *19*(10), 16950-16958.
10. P. Kumar, A. N. Deshmukh, R. K. Upadhyay, M. K. Gurjar. A simple and practical approach to enantiomerically pure (S)-3-hydroxy-γ-butyrolactone: synthesis of (R)-4-cyano-3-hydroxybutyric acid ethyl ester, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2005**, *16*(16), 2717-2721.
11. Z. L. Liu, Q. Liu, B. Xiao, J. Zhou, J. G. Zhang, Y. Li. The vascular protective properties of kinsenoside isolated from *Anoectochilus roxburghii* under high glucose condition, *Fitoterapia*, **2013**, *86*, 163-170.
12. W. Y. Gao, Y. M. Li, D. Y. Zhu. Phenolic glucosides and a gamma-lactone glucoside from the sprouts of *Crocus sativus*, *Planta. Med.*, **1999**, *65(5)*, 425-427.

13. B. B. Cota, A. Magalhães, A. M. C. Pimenta, E. P. Siqueira, T. M. A. Alves, C. L. Zani. Chemical constituents of *Habenaria petalodes* Lindl. (Orchidaceae), *J. Braz. Chem. Soc.*, **2008**, *19(6)*, 1098-1104.

14. J. Tao, T. Kishimoto, M. Hamada, N. Nakajima. Enzymatic synthesis of methyl β-d-glucoside directly from cellulose pretreated with biocompatible amino acid ionic liquid/cosolvent, *Holzforschung*, **2017**, *71(1)*, 21-26.

15. H. J. Min, T. S. Lee, Y. S. Bae. Structure Determination of Sucrose by Acetylation and Acid Hydrolysis, *J. Korean Wood Sci. Technol.*, **2014**, *42(2)*, 183-192.

Corresponding author: **Nguyen Huu Toan Phan**
Tay Nguyen Institute of Scientific Research
Vietnam Academy of Science and Technology
116, Xo Viet Nghe Tinh, Da Lat, Lam Dong, Vietnam
Email: phannht@tni.ac.vn.

ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA ĐIỀU KIỆN CHIẾU SÁNG LED ĐA PHỔ BỔ SUNG TỚI SINH TRƯỞNG CỦA HƯƠNG NHU TRẮNG (*Ocimum gratissimum* L.) TRONG NHÀ LƯỚI

Vũ Thị Nghiêm[1], Tống Quang Công[1], Trần Quốc Tiến[1], Chu Thị Thu Hà[2*]

[1]Viện Khoa học vật liệu, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST), 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

[2]Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, VAST, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày gửi bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

Nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng LED đa phổ bổ sung tới sinh trưởng của cây Hương nhu trắng trồng trong nhà lưới. Hai nhóm phổ từ các gói LED bức xạ ở vùng Đỏ-R-660 nm và Xanh lam-B-440 nm kết hợp với vùng Tử ngoại UV-A-365 nm hoặc với vùng Xanh lá cây-G-530 nm được sử dụng. Ba khung thời gian chiếu sáng bổ sung khác nhau trong mỗi ngày đêm gồm 4 giờ, 6 giờ và 8 giờ với độ rọi ~120±10 µmol.m^{-2}.s^{-1}, xác định tại vị trí đỉnh cây (cách đèn khoảng 50 cm) được thiết lập. Các công thức chiếu sáng bổ sung đều tác động tích cực làm tăng chiều cao, số nhánh và khối lượng tươi của phần trên mặt đất của cây Hương nhu trắng sau 2 tuần, 4 tuần và/hoặc 15 tuần chiếu sáng. Trong đó, nhóm phổ chứa UV-A với tỉ lệ tăng khối lượng cây so với đối chứng từ 38,29-51,82% thể hiện ảnh hưởng tích cực hơn so với nhóm phổ chứa G với tỉ lệ chỉ tăng khối lượng từ 1,11-28,92%. Trong cùng nhóm phổ thì thời gian chiếu sáng khác nhau ảnh hưởng khác nhau đến chiều cao, số nhánh ở ba thời điểm đo và khối lượng tươi của cây ở thời điểm thu hoạch. Công thức chiếu sáng bổ sung tối ưu nhất trong nghiên cứu này cho cây Hương nhu trắng sinh trưởng là công thức CT2 với tỉ lệ phổ LED 70 Đỏ-R:20 Xanh lam-B:10 Tử ngoại-UV-A, cường độ chiếu sáng 120 µmol.m^{-2}.s^{-1} và thời gian chiếu sáng 6 giờ/ngày đêm. Kết quả nghiên cứu là cơ sở để mở ra ứng dụng chiếu sáng LED đa phổ bổ sung nhằm tăng cường năng suất cây Hương nhu trắng nói riêng và các loài cây dược liệu nói chung, đặc biệt có thể chủ động canh tác trong các điều kiện địa lý, khí hậu và mùa vụ khác nhau.

Từ khóa: Chiếu sáng LED bổ sung, Hương nhu trắng, *Ocimum gratissimum* L..

1. GIỚI THIỆU

Hương nhu trắng (HNT) (*Ocimum gratissimum* L.) thuộc họ Bạc hà (Lamiaceae Lindl.), là loài cây dược liệu quý có giá trị sử dụng trong ngành thực phẩm, hương liệu và dược phẩm rộng rãi tại nhiều quốc gia, có phân bố chủ yếu ở châu Á và châu Phi.[1] Đây là loài thực vật có dạng cây bụi cao, ưa sáng và ẩm, thường được sử dụng làm thuốc chữa cảm cúm, ho, lở miệng,[1] là nguồn nguyên liệu chưng cất tinh dầu để tách eugenol dùng trong nha khoa và tổng hợp vanilin.[2] Ở Ấn Độ, tinh dầu HNT có tác dụng gây tê cục bộ ở nồng độ 1:100.[3] Bên cạnh đó, ở Vân Nam, Trung Quốc, HNT được dùng trị phong hàn cảm mạo, phong thấp, đau khớp, trị viêm da và rắn cắn.[4] Ngoài ra, HNT còn được sử dụng trong y học cổ truyền để điều trị nhiều bệnh lý như tiểu đường, ung thư, thiếu máu, viêm nhiễm, nhiễm trùng vi khuẩn và nấm.[5] Mặt khác, HNT có tác dụng phục hồi các rối loạn chuyển hóa do phenylhydrazine gây ra trong máu, gan và thận, do đó có thể được sử dụng như một loại thuốc bổ chống thiếu máu.[6]

Hiện nay, các nghiên cứu chuyên sâu về các thành phần hữu ích của HNT nhằm tăng cường sức khỏe cho con người đang được nhiều nhà khoa học quan tâm thực hiện. Bên cạnh

đó, một số nghiên cứu về sinh trưởng của HNT dưới các điều kiện môi trường khác nhau nhằm thu được năng suất sinh khối cao cũng đã được công bố. Ví dụ, so sánh ở điều kiện đủ ánh sáng mặt trời và dưới bóng râm tự nhiên (tương đương 26,7-44,2% ánh sáng mặt trời đầy đủ), được tưới nước hàng ngày và tưới nước cách nhau 5 ngày;[7] ở điều kiện tưới nước và bón phân đạm với các liều lượng khác nhau;[8] dưới các điều kiện bổ sung kẽm khác nhau trong nhà màng;[9] so sánh ở điều kiện nhà màng và điều kiện ngoài trời, với các chế độ bón phân khác nhau.[10] Trong số các yếu tố môi trường, ánh sáng là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sinh lý của cây. Căn cứ vào đặc tính sinh thái của từng loài tại các vùng địa lý khác nhau và mùa vụ trong năm, việc chủ động điều chỉnh môi trường chiếu sáng phù hợp cho cây sinh trưởng và phát triển là rất cần thiết. Những năm gần đây, công nghệ chiếu sáng LED thực sự là công cụ mạnh mẽ thúc đẩy tăng trưởng cây trồng,[11] điều chỉnh các quá trình sinh lý trong thực vật, thúc đẩy tích luỹ của các hợp chất thứ cấp trong thực vật. Với thế mạnh như tuổi thọ cao, kích thước nhỏ, hiệu suất cao, bức xạ nhiệt thấp, đặc biệt tính linh hoạt trong ứng dụng chiếu sáng nông nghiệp của công nghệ chiếu sáng LED, có thể kết hợp nhiều chíp LED để cung cấp đủ mật độ photon quang hợp về mặt năng lượng và kết hợp đa bước sóng phù hợp với nhu cầu hấp thụ đặc trưng của thực vật nhằm kiểm soát quang sinh hình thái ở thực vật, đẩy nhanh chu kỳ sinh sản, cải thiện chất lượng thông qua quá trình tích lũy, tổng hợp các chất thứ cấp trong thực vật.[12] Ánh sáng đỏ (R) và xanh lam (B) có hiệu quả quang hợp tốt nhất cho cây vì các sắc tố diệp lục hấp thụ ánh sáng chủ yếu ở hai vùng này. Ánh sáng màu xanh lá cây (G) tuy hiệu quả quang hợp thấp, nhưng nó có thể xuyên sâu vào lá, góp phần tăng lượng carbon và năng suất cây trồng.[13] Hơn nữa, vùng ánh sáng G không chỉ được hấp thụ mà còn thúc đẩy và điều chỉnh các phản ứng sinh lý và đặc điểm giải phẫu ở thực vật, kích thích quá trình quang hợp sâu bên trong cấu trúc lá cây, tối ưu hóa khẩu độ khí khổng, tinh chỉnh hiệu quả tán cây, đóng góp đáng kể vào năng suất thực vật và hiệu quả sử dụng tài nguyên.[11] Bổ sung ánh sáng tia cực tím (UV-A) cải thiện quá trình quang hợp, tăng cường các chất thứ cấp có hoạt tính tính sinh học.[12] Riêng về cây HNT, nghiên cứu đánh giá tác động của cường độ ánh sáng (khoảng 4 $mol.m^{-2}.d^{-1}$, 7 $mol.m^{-2}.d^{-1}$, 11 $mol.m^{-2}.d^{-1}$và 20 $mol.m^{-2}.d^{-1}$) đến hình thái vi mô lá, hàm lượng, năng suất và thành phần hóa học của tinh dầu đã được thực hiện.[14] Kết quả cho thấy sản lượng sinh khối của các bộ phận khác nhau, tỷ lệ rễ:thân và khối lượng lá trên diện tích tăng tuyến tính với cường độ ánh sáng. Trong khi tỷ lệ chất khô của thân, số lượng lá, diện tích lá và chiều cao cây tăng lên theo điều kiện cường độ chiếu sáng tới 10 $mol.m^{-2}.d^{-1}$ và giảm từ giá trị này.

Các nghiên cứu trước đây đã cho thấy chất lượng và cường độ ánh sáng ảnh hưởng trực tiếp đến các hoạt động sinh lý của cây. Đây là một trong những yếu tố quan trọng nhằm mở ra hướng chủ động thúc đẩy sinh trưởng cây dược liệu nói chung và cây HNT nói riêng theo điều kiện không gian và thời gian.

Trong bài báo này, chúng tôi nghiên cứu phát triển hệ thống chiếu sáng kết hợp LED đa phổ trên cơ sở hai thành phần chính là đỏ-R-660 nm và xanh lam-B-440 nm, đồng thời bổ sung thêm vùng cực tím UV-A-365 nm và xanh lá cây-G-530 nm để chiếu sáng bổ sung vào ban đêm cho cây HNT nhằm đánh giá ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng LED đa phổ bổ sung đến sinh trưởng của HNT và lựa chọn điều kiện tối ưu cho cây sinh trưởng. Theo hiểu biết của chúng tôi, đây là nghiên cứu đầu tiên về đối tượng loài HNT tại Việt Nam trong chủ đề này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguồn sáng và các công thức chiếu sáng LED bổ sung

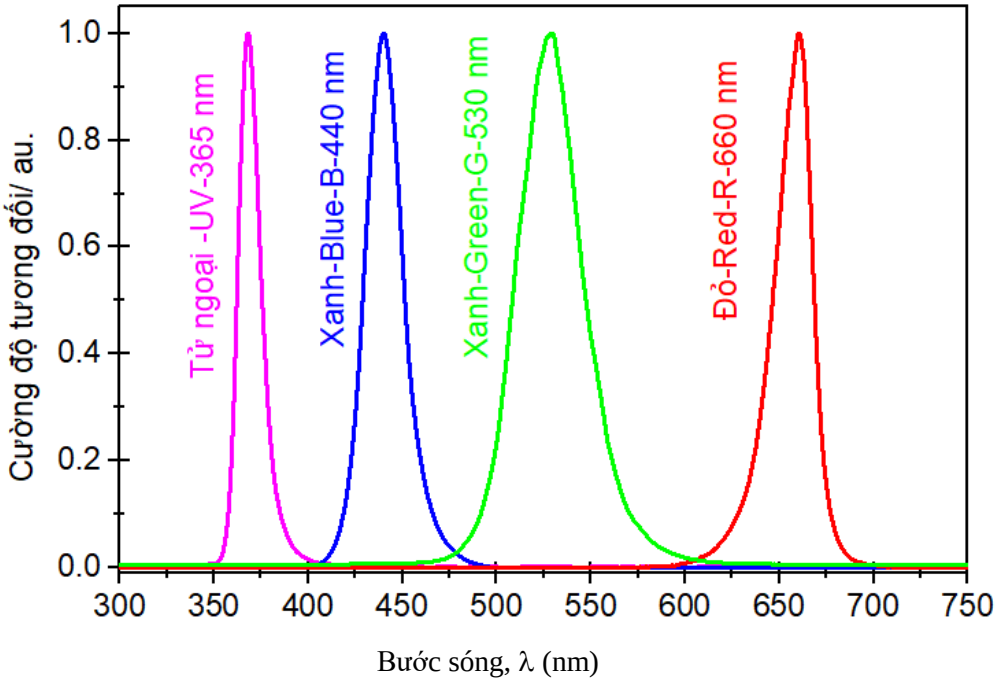
Các công thức chiếu sáng được phát triển trên cơ sở hai nhóm phổ khác nhau (R:B:UV = 70:20:10; R:B:G = 70:20:10, tỷ số được thành lập theo công suất điện), thời gian chiếu sáng bổ sung trong khung giờ hàng ngày từ 01h00/02h00/03h00 đến 05h00 và từ 19h00 đến

21h00/22h00/23h00 (4, 6 và 8 giờ/ngày đêm) và kéo dài 15 tuần từ sau khi cây trồng được ổn định đến khi cây ra hoa, với độ rọi 120 µmol.m^{-2}.s^{-1} (được xác định tại vị trí đỉnh cây, cách đèn khoảng 50 cm), và 01 công thức đối chứng không được chiếu sáng bổ sung (Bảng 1). Phổ bức xạ LED được đo bằng Máy quang phổ sợi quang USB2000+. Các vùng phổ ánh sáng LED tử ngoại (UV, đỉnh ~365 nm), xanh lam (B, đỉnh ~ 440 nm), đỏ (R, đỉnh ~ 660 nm) và xanh lá cây (G, đỉnh ~530 nm) (Hình 1).

Bảng 1. Các công thức chiếu sáng LED đa phổ bổ sung cho Hương nhu trắng

Công thức	Phổ ánh sáng (% theo công suất điện)				Cường độ chiếu sáng (µmo.m^{-2} s^{-1})	Thời gian chiếu sáng (giờ/ngày đêm)
	Đỏ-R	Xanh lam-B	Tử ngoại-UV-A	Xanh lá cây-G		
CT1	70	20	10	-	120	8
CT2	70	20	10	-	120	6
CT3	70	20	10	-	120	4
CT4	70	20	-	10	120	8
CT5	70	20	-	10	120	6
CT6	70	20	-	10	120	4
CT7	Không dùng ánh sáng bổ sung (Đối chứng)					

Ghi chú: CT = công thức; - không áp dụng.



Hình 1. Phổ LED được sử dụng chiếu sáng bổ sung cho Hương nhu trắng

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được thực hiện trong nhà lưới tại Khu Nghiên cứu và triển khai công nghệ cao Nguyễn Văn Hiệu thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (địa điểm tại Cổ Nhuế, Bắc Từ Liêm, Hà Nội). Hạt HNT được mua từ Công ty Đức Thắng tại Hà Nội và gieo vào tháng 4 năm 2024, sau 7 tuần khi cây con cao khoảng 15 cm, lựa chọn cây có kích

thước đồng đều để trồng vào các ô thí nghiệm với mật độ trồng 40 cm × 50 cm. Các ô thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên, với 03 lần lặp lại, tổng cộng 21 ô thí nghiệm được thiết lập × 15 cây/1 ô. Các yếu tố chăm sóc dinh dưỡng, nước tưới và ánh sáng mặt trời được áp dụng đồng đều tại tất cả các ô. Sau khi cây trồng ổn định được 1 tháng, tiến hành chiếu sáng bổ sung theo các công thức đã nêu tại Bảng 1, nhằm đánh giá ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng LED bổ sung tới sinh trưởng của HNT.

2.2.2. Phương pháp xác định một số chỉ tiêu sinh trưởng của cây

Các chỉ tiêu sinh trưởng của HNT bao gồm chiều cao cây, số nhánh cấp 1 được xác định tại các thời điểm chiếu sáng bổ sung khác nhau, gồm: ngày đầu tiên (T0), sau 2 tuần (T1), sau 4 tuần (T2) và sau 15 tuần (T3) tại thời điểm thu hoạch.

Số nhánh cây được xác định bằng cách đếm số lượng nhánh cấp 1/cây.

Chiều cao cây được xác định bằng cách đo chiều cao từ gốc sát mặt đất đến ngọn dài nhất của cây.

Khối lượng tươi (g/cây) được xác định bằng cách cân phần sinh khối trên mặt đất của cây.

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả dữ liệu thu thập được phân tích, xử lý bằng phần mềm Excel và Irristat 5.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của chiếu sáng LED đa phổ bổ sung tới chiều cao cây Hương nhu trắng

Tại thời điểm T0 vào ngày bắt đầu chiếu sáng bổ sung cho HNT, chiều cao trung bình của cây đạt ở mức 15,15±0,43 cm/cây. Tại các thời điểm T1, T2, và T3 sau thời gian chiếu sáng bổ sung 2 tuần, 4 tuần và 15 tuần, chiều cao cây HNT tại các công thức có sự biến đổi khác nhau (Bảng 2).

Bảng 2. Chiều cao cây Hương nhu trắng ở các công thức chiếu sáng LED đa phổ bổ sung khác nhau

Công thức	Chiều cao cây tại thời điểm T1 (cm/cây)	Chiều cao cây tại thời điểm T2 (cm/cây)	Chiều cao cây tại thời điểm T3 (cm/cây)
CT1	24,58±0,63^{b}	34,79±0,83^{b}	104,42±1,51^{a}
CT2	26,55±0,63^{a}	38,05±0,35^{a}	117,55±6,07^{a}
CT3	27,15±1,92^{a}	37,89±0,90^{a}	110,49±9,62^{a}
CT4	26,14±0,23^{a}	37,34±0,50^{a}	101,29±4,24^{b}
CT5	23,35±0,64^{c}	32,49±0,76^{c}	104,45±13,31^{a}
CT6	25,77±1,20^{a}	34,74±0,48^{b}	98,81±9,25^{b}
CT7	20,16±0,31^{d}	29,67±0,95^{d}	97,63±1,28^{b}
5% LSD	*1,7887*	*0,9314*	*14,311*

Ghi chú: 5% LSD: Giá trị sai khác nhỏ nhất đáng kể ở mức ý nghĩa 5%; Các giá trị có cùng chữ cái theo sau trong mỗi cột khác biệt không đáng kể ở mức ý nghĩa 5%.

Nhìn chung các công thức chiếu sáng LED đa phổ bổ sung được sử dụng trong nghiên cứu này đều kích thích tăng chiều cao cây HNT mạnh hơn so với công thức đối chứng chỉ dùng ánh sáng mặt trời. Trong đó, các cây trồng ở nhóm phổ chiếu sáng bổ sung có chứa thành phần phổ UV-A (CT1, CT2, CT3) có chiều cao tăng cao hơn so với nhóm chứa thành

phần phổ G (CT4, CT5, CT6). Tác dụng của nhóm phổ ánh sáng có chứa UV-A được ghi nhận trong nghiên cứu này cũng phù hợp với nghiên cứu trước đây về cây Húng quế cho thấy phổ ánh sáng UV-A làm tăng đáng kể chiều cao của cây.[15] Nhóm phổ chiếu sáng bổ sung có chứa thành phần phổ G cũng có tác dụng kích thích tăng trưởng do phổ G có khả năng thâm nhập sâu vào lá cây, tùy theo ánh sáng mạnh hay yếu mà phổ ánh sáng này thâm nhập sâu ở lớp bề mặt lá hoặc đạt mức cao tối đa ở lớp giữa của lá, do sự thay đổi trong phân bố diệp lục, nhờ đó cũng làm tăng chiều cao một số loài cây.[16]

Trong cùng nhóm phổ, thời gian chiếu sáng bổ sung trong ngày đêm khác nhau cũng ảnh hưởng đáng kể đến chiều cao của cây. Ở giai đoạn cây non sau khi chiếu sáng được 2 tuần (T1), chiều cao cây HNT ở cả 6 công thức có chiếu sáng bổ sung đều cao hơn đáng kể ($p < 0,01$) so với công thức đối chứng (CT7, đạt 20,16 cm/cây). Cụ thể, ở nhóm phổ có chứa UV-A, thời gian chiếu sáng bổ sung 4 giờ/ngày đêm (CT3) kích thích cây HNT tăng chiều cao mạnh nhất (đạt 27,15 cm/cây), cao hơn một chút so với công thức CT2 (đạt 26,55 cm/cây) và khác biệt đáng kể so với công thức CT1 (đạt 24,58 cm/cây). Trong khi đó, ở nhóm phổ có chứa G, thời gian chiếu sáng bổ sung 8 giờ/ngày đêm ở công thức CT4 (đạt 26,14 cm/cây) kích thích cây tăng chiều cao mạnh hơn so với công thức CT6 (đạt 25,77 cm/cây) và khác biệt đáng kể so với công thức CT5 (đạt 23,35 cm/cây).

Sau khi chiếu sáng được 4 tuần (T2), chiều cao cây HNT ở cả 6 công thức có chiếu sáng bổ sung vẫn cao hơn đáng kể ($p < 0,01$) so với công thức đối chứng (CT7, đạt 29,67 cm/cây). Tuy nhiên, ở nhóm phổ có chứa UV-A có sự thay đổi về xu hướng tác động của chiếu sáng bổ sung đối với chiều cao cây HNT so với thời điểm T1. Cụ thể, thời gian chiếu sáng bổ sung 6 giờ/ngày đêm ở công thức CT2 kích thích cây HNT tăng chiều cao mạnh nhất (đạt 38,05 cm/cây), cao hơn một chút so với 4 giờ/ngày đêm (CT3, đạt 37,89 cm/cây) và khác biệt đáng kể so với 8 giờ/ngày đêm (CT1, đạt 34,79 cm/cây). Kết quả này cũng có điểm chung với nghiên cứu về cây rau cải xanh tại Kiên Giang cho thấy ở giai đoạn cây non, thời gian chiếu sáng bổ sung 4 giờ/ngày đêm có tác dụng kích thích tăng chiều cao cây mạnh nhất, trong khi ở giai đoạn cây lớn hơn thì thời gian chiếu sáng bổ sung 6 giờ/ngày đêm mang lại hiệu quả cao hơn, tuy sử dụng hệ phổ và cường độ chiếu sáng khác.[17] Trong khi đó, ở nhóm phổ có chứa G, xu hướng tác động của chiếu sáng bổ sung đối với chiều cao cây HNT vẫn duy trì giống với thời điểm T1, thời gian chiếu sáng bổ sung 8 giờ/ngày đêm ở công thức CT4 mang lại tác động mạnh nhất làm tăng chiều cao của cây (đạt 37,34 cm/cây), khác biệt đáng kể so với hai công thức còn lại (CT5 đạt 32,49 cm/cây và CT6 đạt 34,74 cm/cây).

Tại thời điểm thu hoạch, sau 15 tuần chiếu sáng (T3), khác biệt về chiều cao cây HNT giữa 7 công thức nhìn chung không đáng kể ($p = 0,106$). So với chiều cao cây tại công thức đối chứng (CT7, đạt 97,63 cm/cây), 3 công thức chiếu sáng bổ sung có chứa UV-A nói riêng đều cao hơn và khác biệt đáng kể. Tuy xu hướng về thứ tự chiều cao cây trong nhóm 3 công thức này vẫn được duy trì giống như ở thời điểm T2, cao nhất tại công thức CT2 (đạt 117,55 cm/cây), nhưng không có sự khác biệt đáng kể đối với công thức CT1 (đạt 104,42 cm/cây) và CT3 (đạt 110,49 cm/cây). Trong khi đó, đối với 3 công thức chiếu sáng bổ sung có chứa G, xu hướng về thứ tự chiều cao cây đã thay đổi so với thời điểm T1 và T2, thể hiện ở giá trị lớn nhất được ghi nhận tại công thức CT5 (đạt 104,45 cm/cây), khác biệt đáng kể so với công thức CT4 (đạt 101,29 cm/cây) và CT6 (đạt 98,81 cm/cây) (Bảng 2).

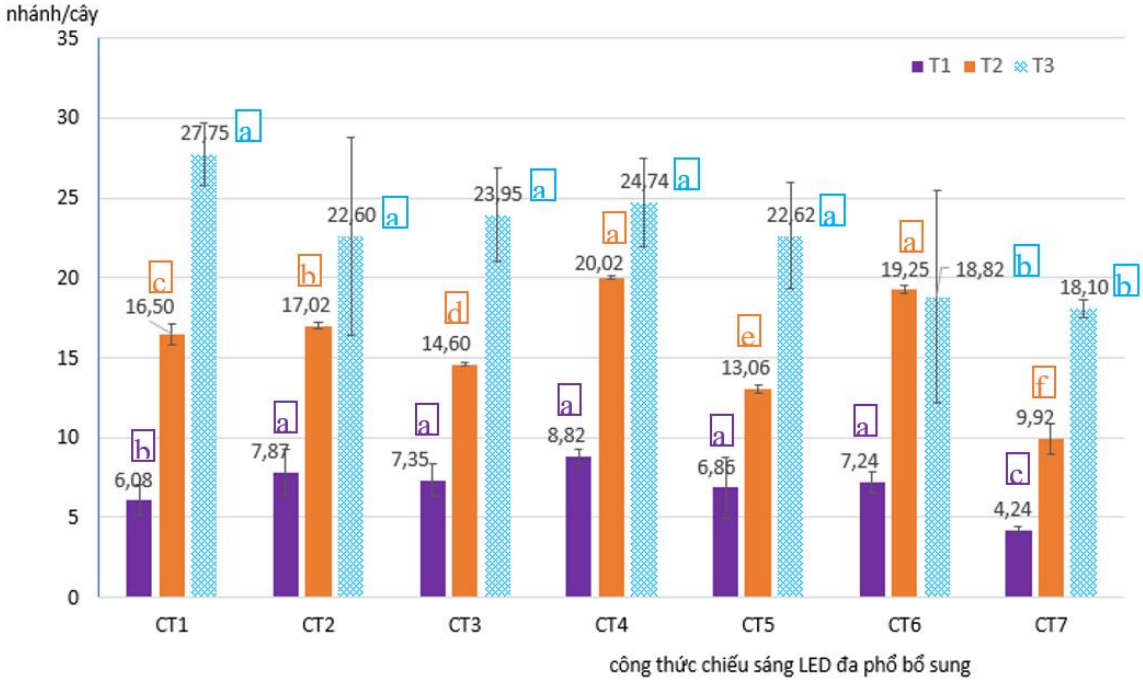
Điều đáng chú ý là trong cả hai nhóm phổ, tại thời điểm thu hoạch HNT khi đã chiếu sáng bổ sung 15 tuần (T3), thời gian chiếu sáng 6 giờ/ngày đêm là tốt nhất đối với sự tăng trưởng chiều cao của cây. Như vậy, có thể nói với 2 nhóm phổ được xây dựng, cường độ chiếu sáng 120 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$, thời gian chiếu sáng bổ sung tối ưu cho cây HNT tăng trưởng chiều cao là 6 giờ/ngày đêm. Thời gian chiếu sáng bổ sung dài hơn (8 giờ/ngày đêm) và ngắn hơn (4 giờ/ngày đêm) có thể chưa phù hợp đối với chế độ hoạt động và nghỉ ngơi của HNT ở giai đoạn cây trưởng thành. Nghiên cứu trước đây về cây Húng quế cho rằng, cây cần chu kỳ

tối để phát triển bình thường, thời gian chiếu sáng quá dài sẽ làm cây còi cọc và vàng lá.[18] Một nghiên cứu về cây rau diếp cho thấy thời gian chiếu sáng tổng số tối ưu cho cây sinh trưởng là 16-18 giờ/ngày.[19]

3.2. Ảnh hưởng của chiếu sáng LED đa phổ bổ sung tới số nhánh cây Hương nhu trắng

Tại thời điểm T0 vào ngày bắt đầu chiếu sáng bổ sung cho HNT, số nhánh cấp 1 trung bình của cây đạt ở mức 0,15±0,02 nhánh/cây. Tại các thời điểm T1, T2, và T3 sau thời gian chiếu sáng bổ sung 2 tuần, 4 tuần và 15 tuần, số nhánh cấp 1 của cây HNT tại các công thức có sự biến đổi khác nhau (Hình 2).

Số nhánh cây Hương nhu trắng ở các công thức chiếu sáng LED đa phổ bổ sung khác nhau.



Hình 2. Số nhánh cây Hương nhu trắng ở các công thức chiếu sáng LED đa phổ bổ sung khác nhau

Ghi chú: Các giá trị có cùng chữ cái theo sau trong mỗi thời điểm (T1/T2/T3) khác biệt không đáng kể ở mức ý nghĩa 5%.

Tương tự chiều cao cây HNT, nhìn chung các công thức chiếu sáng LED đa phổ bổ sung được sử dụng trong nghiên cứu này đều kích thích tăng số nhánh cấp 1 của cây mạnh hơn so với công thức đối chứng chỉ dùng ánh sáng mặt trời. Trong đó, các cây trồng ở nhóm phổ chiếu sáng bổ sung có chứa thành phần phổ UV-A (CT1, CT2, CT3) có số nhánh tăng mạnh hơn ở giai đoạn cây trưởng thành so với nhóm chứa thành phần phổ G (CT4, CT5, CT6).

Thời gian chiếu sáng bổ sung trong ngày đêm khác nhau cũng ảnh hưởng đáng kể đến số nhánh của cây. Ở giai đoạn cây non sau khi chiếu sáng được 2 tuần (T1), số nhánh cấp 1 của cây HNT ở cả 6 công thức có chiếu sáng bổ sung đều cao hơn đáng kể ($p = 0,01$) so với công thức đối chứng (CT7, đạt 4,24 nhánh/cây). Cụ thể, trong số các công thức ở nhóm phổ chiếu sáng bổ sung có chứa thành phần phổ UV-A, công thức CT2 với thời gian chiếu sáng bổ sung 6 giờ/ngày đêm có số nhánh nhiều nhất (đạt 7,87 nhánh/cây), cao hơn một chút so với công thức CT3 (đạt 7,35 nhánh/cây) và khác biệt đáng kể với công thức CT1 (đạt 6,08 nhánh/cây). Trong khi đó, ở nhóm phổ có chứa G, tuy thời gian chiếu sáng bổ sung 8 giờ/ngày đêm (CT4) mang lại tác động mạnh nhất đối với sự ra nhánh của cây, đạt 8,82

nhánh/cây, nhưng không khác biệt đáng kể so với hai công thức còn lại (CT5, đạt 6,86 nhánh/cây; và CT6, đạt 7,24 nhánh/cây).

Sau khi chiếu sáng được 4 tuần (T2), số nhánh cấp 1 của cây HNT ở cả 6 công thức có chiếu sáng bổ sung vẫn cao hơn đáng kể ($p < 0,01$) so với công thức đối chứng (CT7, đạt 9,92 nhánh/cây) và có sự cách biệt lớn hơn so với thời điểm T1. Ở nhóm phổ có chứa UV-A, khác biệt đáng kể được ghi nhận ở 3 công thức, trong đó công thức CT2 vẫn đứng đầu về số nhánh (đạt 17,02 nhánh/cây), tiếp đến là công thức CT1 đã vươn lên vị trí thứ 2 (đạt 16,50 nhánh/cây) và công thức CT3 có số nhánh ít nhất (đạt 14,60 nhánh/cây). Trong khi đó, ở nhóm phổ có chứa G, tuy xu hướng tác động của chiếu sáng bổ sung đối với số nhánh cấp 1 của cây HNT vẫn duy trì giống với thời điểm T1, nhưng có sự cách biệt lớn hơn, số lượng nhánh nhiều nhất ở công thức CT4 (đạt 20,02 nhánh/cây) tiếp theo là công thức CT6 (đạt 19,25 nhánh/cây), khác biệt đáng kể so với công thức CT5 (đạt 13,06 nhánh/cây).

Sau 15 tuần chiếu sáng (T3), tại thời điểm thu hoạch, khác biệt về số nhánh cấp 1 của cây HNT giữa 7 công thức nhìn chung không đáng kể ($p = 0,184$). So với số nhánh cây tại công thức đối chứng (CT7, đạt 18,10 nhánh/cây), 3 công thức chiếu sáng bổ sung có chứa UV-A nói riêng đều cao hơn và khác biệt đáng kể. Xu hướng về thứ tự số nhánh cây trong nhóm 3 công thức này đã thay đổi so với ở thời điểm T1 và T2, cao nhất tại công thức CT1 (đạt 27,75 nhánh/cây), nhưng không có sự khác biệt đáng kể đối với công thức CT2 (đạt 22,60 nhánh/cây) và CT3 (đạt 23,95 nhánh/cây). Tương tự, đối với 3 công thức chiếu sáng bổ sung có chứa G, xu hướng về thứ tự số nhánh cây cũng thay đổi so với thời điểm T1 và T2, thể hiện ở giá trị lớn nhất được ghi nhận tại công thức CT4 (đạt 27,74 nhánh/cây), tiếp theo là công thức CT5 (đạt 22,62 nhánh/cây) và khác biệt đáng kể so với CT6 (đạt 18,82 nhánh/cây) (Hình 2).

Điểm chung giữa hai nhóm phổ, tại thời điểm thu hoạch HNT khi đã chiếu sáng bổ sung 15 tuần (T3), thời gian chiếu sáng 8 giờ/ngày đêm là tốt nhất đối với sự phân nhánh của cây. Như vậy, có thể nói với 2 nhóm phổ được xây dựng, cường độ chiếu sáng 120 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$, thời gian chiếu sáng bổ sung tối ưu cho cây HNT phân nhánh là 8 giờ/ngày đêm.

3.3. Ảnh hưởng của chiếu sáng LED đa phổ bổ sung tới khối lượng tươi cây Hương nhu trắng

Sau 15 tuần thí nghiệm chiếu sáng bổ sung, khối lượng tươi của phần trên mặt đất của HNT ở các công thức được chiếu sáng bổ sung bằng LED đa phổ đều cho thấy sự tăng trưởng tốt hơn so và khác biệt đáng kể ($p < 0,01$) so với công thức đối chứng (CT7, đạt 161,40 g/cây) chỉ sử dụng ánh sáng tự nhiên từ mặt trời (Bảng 3). Ở nhóm phổ chứa UV-A, khối lượng tươi của HNT nhìn chung cao hơn nhóm phổ chứa G, trong đó công thức CT2 với thời gian chiếu sáng bổ sung 6 giờ/ngày đêm đạt giá trị cao nhất là 335,02 g/cây, tăng 51,82% so với đối chứng. Giá trị này khác biệt đáng kể so với công thức CT1 (đạt 269,25 g/cây, tăng 40,06% so với đối chứng) và công thức CT3 (đạt 261,53 g/cây, tăng 38,29%). Trong khi đó, ở nhóm phổ chứa G ghi nhận khối lượng tươi của HNT tăng cao nhất tại công thức CT4 với thời gian chiếu sáng bổ sung 8 giờ/ngày đêm (đạt 227,07 g/cây, tăng 28,92% so với đối chứng), khác biệt đáng kể ($p < 0,01$) so với công thức CT5 và CT6 (đạt 174,87 g/cây và 163,22 g/cây, tương ứng tăng 7,70% và 1,11% so với đối chứng) (Bảng 3).

Tác dụng của nhóm phổ có chứa UV-A làm tăng sinh khối tươi của HNT cũng phù hợp với nghiên cứu trước đây về vai trò của phổ UV-A kết hợp với phổ R, B và/hoặc đỏ xa (Fr) trong việc làm tăng sinh khối của Húng quế,[20] tăng chiều cao cây, diện tích lá và khối lượng lá của loài này,[15] cũng như tăng diện tích lá, số lượng lá và sinh khối chồi rau diếp.[21] Với

nhóm phổ có chứa G, tác dụng kích thích tăng trưởng của một số loài cây do khả năng thâm nhập sâu hơn vào lá cây cũng được báo cáo.[16]

Như vậy, trong số 6 công thức chiếu sáng bổ sung được nghiên cứu, công thức CT2 với tỉ lệ phổ LED 70 Đỏ-R:20 Xanh lam-B:10 Tử ngoại-UV-A, cường độ chiếu sáng 120 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ và thời gian chiếu sáng 6 giờ/ngày đêm là phù hợp nhất cho cây HNT tăng trưởng chiều cao và khối lượng tươi của phần trên mặt đất, tiếp theo là công thức CT1 và CT3 với các thông số phổ giống với công thức CT2, chỉ khác về thời gian chiếu sáng tăng hoặc giảm 2 giờ/ngày đêm. Điều này cũng thể hiện vai trò của hệ phổ có chứa UV-A trong việc thúc đẩy sinh trưởng mang lại năng suất của cây HNT cao hơn so với hệ phổ có chứa G. Điều này cũng phù hợp với nghiên cứu trước đây cho rằng ánh sáng G có tác động ít hơn đối với sinh khối của cây[22]. Tuy nhiên, điểm chung là cả 2 hệ phổ gồm R, B, UV-A và/hoặc G được sử dụng để chiếu sáng bổ sung đều tác động làm tăng sinh khối HNT. Kết quả nghiên cứu mở ra hướng ứng dụng chiếu sáng LED đa phổ bổ sung nhằm tăng cường năng suất cây HNT nói riêng và có thể mở rộng nghiên cứu đối với các loài cây dược liệu nói chung, đặc biệt có thể chủ động canh tác trong các điều kiện địa lý, khí hậu và mùa vụ khác nhau.

Bảng 3. Khối lượng tươi cây Hương nhu trắng ở các công thức khác nhau sau 15 tuần chiếu sáng LED đa phổ bổ sung

Công thức	Khối lượng tươi (g/cây)	Tăng so với đối chứng (%)
CT1	$269,25^{b}$±7,17	40,06
CT2	$335,02^{a}$±18,25	51,82
CT3	$261,53^{c}$±0,76	38,29
CT4	$227,07^{d}$±2,66	28,92
CT5	$174,87^{e}$±2,16	7,70
CT6	$163,22^{f}$±3,50	1,11
CT7	$161,40^{f}$±1,22	0
5% LSD	14,1915	-

Ghi chú: 5% LSD: Giá trị sai khác nhỏ nhất đáng kể ở mức ý nghĩa 5%; Các giá trị có cùng chữ cái theo sau trong mỗi cột khác biệt không đáng kể ở mức ý nghĩa 5%.

4. KẾT LUẬN

Các điều kiện chiếu sáng LED đa phổ bổ sung được nghiên cứu đều tác động tích cực đến sinh trưởng của cây HNT, thể hiện ở chiều cao, số nhánh và khối lượng tươi của phần trên mặt đất của cây Hương nhu trắng sau 2 tuần, 4 tuần và/hoặc 15 tuần chiếu sáng đều cao hơn so với ở điều kiện đối chứng chỉ sử dụng ánh sáng mặt trời. Nhóm phổ chứa UV-A thể hiện ảnh hưởng tích cực hơn, với mức độ tăng khối lượng HNT cao hơn so với nhóm phổ chứa G. Thời gian chiếu sáng khác nhau trong cùng nhóm phổ cũng ảnh hưởng khác nhau đến chiều cao, số nhánh ở ba thời điểm đo và khối lượng tươi của cây ở thời điểm thu hoạch. Nghiên cứu đã đánh giá được công thức chiếu sáng bổ sung tối ưu nhất, trong số các công thức được sử dụng, cho cây HNT sinh trưởng là công thức CT2 với tỉ lệ phổ LED 70 Đỏ-R:20 Xanh lam-B:10 Tử ngoại-UV-A, cường độ chiếu sáng 120 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ và thời gian chiếu

sáng 6 giờ/ngày đêm. Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học và thực tiễn để thúc đẩy sinh trưởng và năng suất cây HNT nói riêng và các loài cây dược liệu nói chung một cách chủ động, thông qua mở rộng ứng dụng chiếu sáng LED đa phổ bổ sung, đặc biệt trong các điều kiện địa lý, khí hậu và mùa vụ khác nhau.

Lời cảm ơn. Công trình này được thực hiện với sự hỗ trợ tài chính của đề tài nghiên cứu khoa học công nghệ cấp cơ sở chọn lọc, Viện Khoa học vật liệu, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, mã số: CSCL04.10/24-25.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Xuân Phương. Thực vật chí Việt Nam, tập 2, Họ Bạc hà-Lamiaceae Lindl. *Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật*, 2000, 89-91.
2. Lã Đình Mỡi, Lưu Đàm Cư, Trần Minh Hợi, Nguyễn Thị Thủy, Nguyễn Thị Phương Thảo, Trần Huy Thái, Ninh Khắc Bản. Tài nguyên thực vật có tinh dầu ở Việt Nam, tập I. *Nhà xuất bản Nông nghiệp*, Hà Nội, **2001**, 154-163.
3. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiển, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập, Trần Toàn. Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, tập 1, *Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật*, **2004**, 1029-1031.
4. Võ Văn Chi. Từ điển Cây thuốc Việt Nam (bộ mới) tập 1. *Nhà xuất bản Y học*, **2012**, tr. 1175.
5. Ugbogu O. C., Emmanuel O., Agi G. O., Ibe C., Ekweogu C. N., Ude V. C., Uche M. E, Nnanna R. O., Ugbogu E. A. A review on the traditional uses, phytochemistry, and pharmacological activities of clove basil (*Ocimum gratissimum* L.), *Heliyon*, **2021**, *7*(11), e08404.
6. Akara E. U., Emmanuel O., Ude V. C., Uche-Ikonne C., Eke G., Ugbogu E. A. *Ocimum gratissimum* leaf extract ameliorates phenylhydrazine-induced anaemia and toxicity in Wistar rats, *Drug Metabolism and Personalized Therapy*, **2021**, *36*(4), 311-320.
7. Omobolanle Ade-Ademilua E., Oghenekome Obi H., Craker L. E. Growth and essential oil yield of African basil, *Ocimum gratissimum*, under light and water stress. *Journal of medicinally active plants*, **2013**, *1*(4), 143-149.
8. Vilanova C. M., Coelho K. P., Luz T. R. S. A., Silveira D. P. B., Coutinho D. F., de Moura E. G. Effect of different water application rates and nitrogen fertilisation on growth and essential oil of clove basil (*Ocimum gratissimum* L.), *Industrial Crops and Products*, **2018**, *125*, 186-197.
9. Bisht M., Pande C., Tewari G., Bhatt S., Triphati S. Effect of zinc on the growth and essential oil composition of *Ocimum gratissimum* L., *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, **2019**, *22*(2), 441-454.
10. Chandel S., Desai B. S., Jha S. K., Sinha S. K., Patel D. P., Kumar N. Role of organic and inorganic fertilizers in enhancing biomass yield and eugenol content of ornamental basil (*Ocimum gratissimum* L.), *Heliyon*, **2024**, *10*(10).
11. Terashima I., Fujita T., Inoue T., Chow W. S., Oguchi R. Green light drives leaf photosynthesis more efficiently than red light instrong white light: Revisiting the enigmatic question of why leaves are green, *Plant. Cell. Physiol.*, **2009**, *50*, 684-697.

12. Kang S., Kim J. E., Zhen S., Kim J. Mild-intensity UV-A radiation applied over a long duration can improve the growth and phenolic contents of sweet basil, *Front. Plant Sci*., **2022**, 1119.

13. Lee J. H., Oh M. M., Son K. H. Short-term ultraviolet (UV)-A light-emitting diode (LED) radiation improves biomass and bioactive compounds of kale, *Front. Plant. Sci*., **2019**, *10*, 1042.

14. Fernandes V. F., Almeida L. B. D., Feijó E. V. D. S., Silva D. D. C., Oliveira R. A. D., Mielke M. S., Costa L. C. D. B. Light intensity on growth, leaf micromorphology and essential oil production of *Ocimum gratissimum*, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **2013**, *23*(3), 419-424.

15. Semenova N. A., Smirnov A. A., Ivanitskikh A. S., Izmailov A. Y., Dorokhov A. S., Proshkin Y. A., Yanykin D. V., Sarimov R. R., Gudkov S. V., Chilingaryan N. O. Impact of ultraviolet radiation on the pigment content and essential oil accumulation in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.), *Applied Sciences*, **2022**, *12*(14), 7190.

16. Brodersen CR, Vogelmann TC. Do changes in light direction affect absorption profiles in leaves? *Funct. Plant. Biol.,* **2010**, *37*, 403-412.

17. Pham V. Q., Pham M. T., Nguyen V. T., Nguyen V. P., Nguyen D. K. D., Vo X. H., Nguyen T. T. H., Duong V. N. The effect of LED lighting durations on growth, yield and quality of mustard (*Brassica juncea* L.) under greenhouse condition, *Trends in Sciences*, **2024**, *21*(12), 8447.

18. Sipos L., Balázs L., Székely G., Jung A., Sárosi S., Radácsi P., Csambalik L. Optimization of basil (*Ocimum basilicum* L.) production in LED light environments - a review, *Scientia Horticulturae*, **2021**, *289*, 110486. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110486.

19. Ahmed H. A., Yu-Xin T., Qi-Chang Y. Optimal control of environmental conditions affecting lettuce plant growth in a controlled environment with artificial lighting: A review, *South African Journal of Botany*, **2020**, *130*, 75-89.

20. Rahman M. M., Vasiliev M., Alameh K. LED Illumination spectrum manipulation for increasing the yield of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.), *Plants*, **2021**, *10*(2), 344.

21. Chen Y., Li T., Yang Q., Zhang Y., Zou J., Bian Z., Wen X. UVA radiation is beneficial for yield and quality of indoor cultivated lettuce, *Frontiers in Plant Science*, **2019**, *10*, 1563.

22. Chen Y., Bian Z., Marcelis L. F., Heuvelink E., Yang Q., Kaiser E. Green light is similarly effective in promoting plant biomass as red/blue light–a meta-analysis. *Journal of Experimental Botany*, **2024**, erae259.

Liên hệ: **Chu Thị Thu Hà**
Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, VAST
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: cttha@iebr.vast.vn / hachuthi@yahoo.com.

AN EFFECTIVE SYNTHESIS OF (Z)-3-DODECEN-1-OL AND ITS APPLICATION IN INSECT PHEROMONE TRAPS

Le Van Dung[1,2], Nguyen Thanh Danh[1,2], Dang Chi Hien[1,2*]

[1]Institute of Chemical Technology, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), 1A TL29 Street, District 12, Ho Chi Minh City, Vietnam

[2]Graduate University of Science and Technology, VAST, 18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

Received 10 Feb 2025; Revised 20 Feb 2025; Accepted 1 Mar 2025

Abstract

A new three-step synthesis route for (Z)-3-dodecen-1-ol has been developed based on the Wittig reaction, achieving an overall yield of 39.3%. The synthesis begins with the conversion of propan-1,3-diol into a bromide derivative, which is then transformed into a phosphonium salt. The ylide is formed using t-BuOK in THF. Additionally, (Z)-3-dodecen-1-ol was converted to (Z)-3-dodecen-1-yl (E)-2-butenoate, the sex pheromone of sweet potato weevil (*Cylas formicarius*), which was shown through field tests to effectively attract sweet potato weevils. This article also includes previously published synthetic routes for (Z)-3-dodecen-1-yl (E)-2-butenoate using the precursor (Z)-3-dodecen-1-ol.

Keywords: (Z)-3-dodecen-1-ol, (Z)-3-dodecen-1-yl (E)-2-butenoate, Wittig reaction, t-BuOK in THF, *Cylas formicarius*.

1. INTRODUCTION

The compound (Z)-3-dodecen-1-ol (**Z3-12OH**) (**1**) serves as a homing pheromone for several termite species, including the Mediterranean termite (*Reticulitermes lucifugus*), the West Indian termite (*Cryptotermes brevis*), and species from Africa and Southeast Asia (Macrotermes).[1,2] The Mediterranean termite is classified under the genus Reticulitermes and primarily feeds on rotten and decaying wood.[3] It can be found in regions such as Provence[4] and Italy,[5] as well as in the broadleaf forests of North America.

Cryptotermes brevis, commonly known as the West Indian dry wood termite or the powder post termite, belongs to the family Kalotermitidae. Meanwhile, Macrotermes is a genus of termites within the subfamily Macrotermitinae, widely distributed across Africa and Southeast Asia, with well-studied species including *Macrotermes natalensis* [6] and *Macrotermes bellicosus*. Another relevant species is *Odontotermes formosanus*, a fungus-growing termite first described in Taiwan and native to Southeast Asia.[7,8]

As a termite-homing pheromone, (**1**) can be utilized to control termite colony growth by managing its formation in food materials. Z3-12OH is the precursor to (*Z*)-3-dodecen-1-yl acetate (**Z3-12OAc**), which serves as a pheromone for various moth species, such as the *Iris gelechiid* moth in Europe and Northeast Asia,[9,10] as well as the potato moths *Tecia solanivora* and *Scrobipalpopsis solanivora*.[11,12] The mealworm moth, *Tenebrio molitor*,[13] and the beet moth *Scrobipalpa ocellatella*[14] are also associated with this compound. The mealworm, originally from the Mediterranean, has been introduced to Vietnam predominantly through unofficial imports from China. Due to some confusion between mealworms and the rice worm *Zophobas morio*,[15] yellow mealworm beetles are considered an invasive species, even though they cannot thrive in the wild. Local newspapers have even issued warnings about these mealworms, likening them to the invasive golden apple snail.

In Vietnam, sweet potato weevils are a significant food crop, ranking after rice and corn. (**1**) is also the precursor to (*Z*)-3-dodecen-1-yl (*E*)-2-butenoate (**Z3-12yl E2-4oate**), which is the sex pheromone of the sweet potato weevil, *Cylas formicarius*.[16,17] These weevils are a notable pest of sweet potatoes and can be found in various regions, including Africa, Australia, the Caribbean, Europe, parts of Asia, and the Americas.[18-20]

Since Z3-12yl E2-4oate acts as the sex pheromone for the sweet potato weevil, developing a synthesis method for (**1**) is essential. This paper presents a three-step synthesis of (**1**), in which the Wittig reaction plays a crucial role. The starting material for this synthesis is propane-1,3-diol, yielding an overall result of 39.3%. Additionally, we summarize previously published synthetic pathways for creating Z3-12yl E2-4oate from its precursor (**1**), (Table 1). These findings contribute to the body of knowledge regarding the synthesis of Z3-12yl E2-4oate and open up new possibilities for proactively attracting sweet potato weevil. This has significant implications for forecasting insect density and managing pest control during emergencies.

Table 1. Comparison of the efficiency of methods between coupling reactions and Wittig reaction in synthesizing (*Z*)-3-dodecen-1-yl (*E*)-2-butenoate.

Coupling reactions						
Authors/ ref.	**Starting materials**	**Key steps/ Main reagents**	**Number of steps**	**Overall yield (%)**	**Advantages**	**Disadvantages**
R. Heath et al. (1986) [16]	$Me(CH_2)_7C{\equiv}CH$	+ Coupling reaction n-BuLi, HMPA/THF + Reduction reaction $Pd/BaSO_4$-quinoline	3	57.5	Few steps, good yield	Use of toxic substances such as HMPA
C.C. Lo et al. (1992) [21]	$HC{\equiv}C(CH_2)_2OH$	+ Coupling reaction NH_3 liquid/$NaNH_2$	4	29.8	Easy to find ingredients	Many steps, low efficiency
S. Tania et al. (2006) [22]	$HC{\equiv}C(CH_2)_2OH$	+ Coupling reaction LDA/DMPU/THF + Phản ứng khử H_2 (Pd/quinoline-hexane)	5	30		Multiple steps, multiple reagents
J.C. Tseng et al. (2013) [23]	$BrCH_2OH$	+ Coupling reaction 1. *n*-BuLi/THF 2. NaI, reflux, 16 hrs. + Reduction reaction 1. $Pd(OAc)_2$, KOH 2. DMF, 145 ^oC, 6 hrs.	5	62	High yield	
Dang Chi Hien et al. (2023) [24]	$HC{\equiv}C(CH_2)_2OH$	+ Coupling reaction *n*-BuLi/THF, KI + Reduction reaction $Pd_2(dba)_3$, KOH, DMF	4	60	High yield, fewer steps than some other methods	
Wittig reaction						
S. Mithran et al. (1999) [17]	Acid oleic	+ Wittig reaction 1. Ph_3P 2. NaH/DMSO	9	4.95		Too many steps, very low performance
Nguyen Cong	$CH_2{=}CHCOOMe$	+ Wittig reaction	5	19.1		

Coupling reactions						
Authors/ ref.	**Starting materials**	**Key steps/ Main reagents**	**Number of steps**	**Overall yield (%)**	**Advantages**	**Disadvantages**
Hao et al. (1996) [25]		1. Ph_3P 2. Dibenzo-18-crown-6/ K_2CO_3 + Reduction reaction LAH/ether				
Phan Kim Son et al. (2016) [26]	$HO(CH_2)_3OH$	+ Wittig reaction 1. PPh_3 2. Sodium bis (trimethylsilyl) amide	5	18.7		
This work	$HO(CH_2)_3OH$	+ Wittig reaction 1. PPh_3 2. t-BuOK/THF	4	31.4	Fewer steps, higher efficiency than other Wittig methods	

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Equipment and chemicals

The following equipment and materials were used in the experiment: an Ultrasonic Cleaner (Powersonic 405), a rotary evaporator (designated as RE200/VC), a magnetic stirrer (RCT Basic IKAMAG®), Pyrex® screw cap culture tubes, and TLC (thin-layer chromatography) silica gel on aluminum plates (designated as 60F-254). For visualization purposes, a $KMnO_4$ solution was utilized. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectra, specifically ^1H NMR and ^{13}C NMR, were obtained using a BRUKER instrument operating at 500 MHz and 125 MHz, respectively, at the Institute of Chemistry - Vietnam Academy of Science and Technology. Gas chromatography (GC) was performed on a Shimadzu GC-2030 equipped with a Flame Ionization Detector (FID) at the Institute of Chemical Technology - Vietnam Academy of Science and Technology. The reagents used in the experiment were acquired from Acros Organics Co. and were purified as necessary according to the experimental procedures outlined in the document.

2.2. Experiments

Synthesis of 3-bromopropan-1-ol (2)

Put (10 g, 0.13 mol) propane-1,3-diol into a double-necked flask, then add a mixture of 220 mL benzene and 95 mL acetone (5:2 ratio) and shake well. Add 20 mL of 40% HBr (*d* 1.38 g/cm^3) to the mixture and reflux to separate the water using a Dean-Stark tube for 12 hours. At the end of reflux, removed the benzene-acetone solvent. The remaining mixture was extracted with *n*-hexane. The organic layer is rewashed with concentrated HCl solution, saturated $NaHCO_3$ solution, and saturated NaCl solution, then dried with $CaCl_2$. Evaporate the solvent under poor pressure to the crude product. Fractional distillation, collecting product (**2**) (14.3 g, 79% yield) at boiling point 84 °C/5 mmHg, n_D^{28} = 1.4867, *d* 1.537 g/cm^3. IR (ν_{max}, *cm^{-1}*): 3350 (*br.*, OH), 2945, 2885, 1638, 1435, 1254, 1210, 1142, 1041, 910, 866, 767, 647, 569. ^1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$, *δppm*) δ_H = 2.1 (*quint*, *J* = 6 Hz, 2H, *H*-2), 3.55 (*t*, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH_2-OH), 3.81 (*t*, *J* = 6 Hz, 2H, C*H*$_2$-Br). ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$, *δppm*) δ_C = 30.3 (C-2), 35.0 (C-3), 60.5 (C-1).

Synthesis of (3-hydroxypropyl)-triphenyl phosphonium bromide (3)

In a 100 mL two-neck flask containing 15 mL of anhydrous acetonitrile, add triphenylphosphine (1.12 g, 8.0 mmol). Heat the mixture for 30 minutes in an ultrasonic bath. Next, add a solution of (**2**) (1.57 g, 6 mmol) in 5 mL of anhydrous acetonitrile into the flask and heat for another 30 minutes. After that, reflux the mixture for 15 hrs, while monitoring the reaction by TLC. Once the reaction is complete, remove the solvent from the mixture and let it cool down for crystallization. Filter the crystalline solid and wash it several times with anhydrous diethyl ether, yielding (**3**) as white crystals (2.5 g, yield 79%). The boiling point of (**3**) is 214-216 °C. IR (*v, cm*$^{-1}$): 3319 (*br*., -OH), 2943, 2860, 1587, 1112, 1056 (C-O), 1047, 788 (C_6H_5-), 755, 742, 721, 692. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO, *δppm*): 1.65-1.69 (*m*, 2H, *H*-2), 3.52-3.59 (*m*, 2H, *H*-1), 3.6-3.62 (*m*, 2H, *H*-3), 4.87 (*s*, 1H, OH), 7.75-7.92 (*m*, 15H, $(C_6H_5)_3P^+$). ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO, *δppm*): 17.4 (C-1), 25.3 (C-2), 60.2 (C-3), 118.2 and 118.8 (C'-1), 130.1 (C'-3), 130.2 (C'-5), 133.5 (C'-2), 133.6 (C'-6), 131.8 and 134.84 (C'-4).

Synthesis of *(Z)*-3-dodecen-1-ol (1)

Prepare THF solvent: 120 mL of epoxide-reduced THF was distilled with sodium flakes under nitrogen to anhydrous the solution. Post-distillation solvent was used for the reaction.

Prepare ylide: Install the three-neck flask system and create a nitrogen atmosphere for about 10 minutes. Then, add 1.62 g (7.1 mmol) of *t*-BuOK in 10 mL anhydrous THF into the flask. Next, stir the mixture and use ultrasound for 10 minutes to dissolve all *t*-BuOK. Last, add 1.4 g (3.5 mmol) of (**3**) in 5 mL anhydrous THF to the mixture. Stir and sonicate the mixture for another 90 minutes.

Wittig reaction: To begin the reaction, add 0.5 g (3.5 mmol) nonanal in 5 mL THF to the ylide mixture. Stir and sonicate continuously for 2 hours at 0 °C, and then stir overnight at room temperature. The mixture should turn orange-yellow. After complete reaction, add crushed ice to the mixture and extract with *n*-hexane. Wash the *n*-hexane layer with water and brine, and dry with $MgSO_4$. Evaporate the organic solution under low pressure to obtain a crude product consisting of a mixture of (*Z*) and (*E*) isomers.

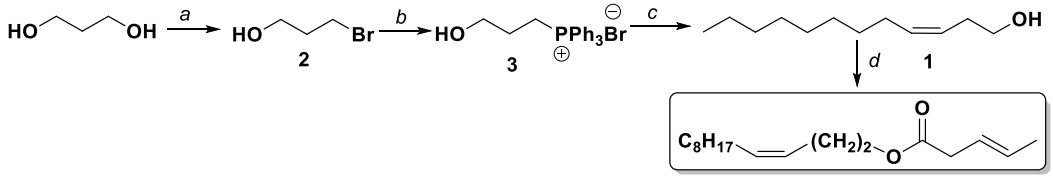
Separation of (Z) and (E) isomers: Add 1.8 g of alcohol mixture into the column pre-packed with 40 g of silica gel impregnated with 20% $AgNO_3$, visualize with 5% $KMnO_4$ solution on a thin plate impregnated with $AgNO_3$. The fraction contains the (*Z*) isomer in the front (5-10% diethyl ether : *n*-hexane) and 10% of the (*E*) isomer in the back. Obtained 0.4 g (63%) of product (**1**), *d* 0.846 g/cm^3. Boiling point of (**1**) is 277 °C. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$, δ*ppm*): 5.56 (*dtt*, *J* = 10.5 Hz, 7.5 Hz, 1.5 Hz, 1H), 5.38 (*dtt*, *J* = 10.5 Hz, 7.5 Hz, 1.5 Hz, 1H), 3.62-3.66 (*m*, 2H), 2.32-2.35 (*m*, 2H); 2.03-2.09 (*m*, 2H), 1.27-1.54 (*m*, 13H), 0.87 (*t*, *J* = 7 Hz, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$, δ*ppm*): 133.5, 124.9, 62.3, 31.9, 30.8, 29.8, 29.5, 29.3, 29.3, 27.5, 22.7, 14.1.

Synthesis of (*Z*)-3-dodecen-1-yl (*E*)-2-butenoate gave similar results as our published procedure.[24]

3. RESULTS AND DISCUSSION

Compound (**1**) is significant in agriculture. It serves as a precursor for insect pheromones, such as Z3-12yl E2-4oate (the pheromone of the sweet potato weevil) and Z3-12OAc (the pheromone of certain moths). Additionally, (**1**) is a natural pheromone for some other insects. As a result, efficient methods for synthesizing Z3-12OH have attracted considerable interest from scientists. Historically, the only notable work on the synthesis of

(**1**) was conducted by Alexis Peppuy in 2001, who employed a coupling reaction. In this approach, 1-decenyl magnesium bromide was coupled with ethylene oxide to produce a 3-decyn-1-ol derivative. The alcohol group (OH) was then protected using DHP. The resulting intermediate underwent triple dehydroxylation with diisoamyl borane, yielding Z3-12OTHP. Finally, deprotection of this compound led to the formation of (**1**).[2]



Scheme 1. Synthesis of (Z)-3-dodecen-1-ol **(1)** and (Z)-3-dodecen-1-yl (E)-2-butenoate from propan-1,3-diol
Reagents. (a) HBr/benzene-acetone; (b) PPh_3/MeCN; (c) t-BuOK/THF, nonanal, rt; (d) crotonyl chloride/Py, 0 ^oC, 2 hrs.

In this study, we have developed a novel synthetic route for (**1**) utilizing a Wittig reaction as the key step. Starting from propan-1,3-diol, we converted it into the bromide derivative $Br(CH_2)_3OH$, followed by the formation of a phosphonium salt and subsequent ylide generation using t-BuOK/THF. The final Wittig reaction with nonanal afforded (**1**) in an overall yield of 39.3%. The advantages of this method include the use of readily available and inexpensive chemicals, as well as a relatively simple synthetic procedure.

Regarding the utilization of (**1**) as a precursor in the synthesis of Z3-12yl E2-4oate, a crucial pheromone in controlling sweet potato weevil, Table 1 presents a detailed comparison of the efficiency and advantages/disadvantages of various synthetic methods. Existing synthetic methods for Z3-12yl E2-4oate primarily rely on two main reactions: coupling and Wittig reactions.

Various coupling methods have been developed, each with its advantages and disadvantages. The methods by Jui-Chang Tseng (2013) and our method (2023) achieved the highest synthesis yields at 62% and 60%, respectively.[23,24] Additionally, the methods proposed by Heath (1986) and our method (2023) involved the fewest steps, with only 3 and 4 steps required, respectively.[16,24] Most methods primarily utilized readily available and relatively easy-to-obtain raw materials, while some employed toxic and costly reagents and catalysts or required harsh reaction conditions.

As shown in Table 1, our method (2023) stands out as remarkable due to its high yield and relatively few steps.[24] However, further research is needed to assess the feasibility of this method on a larger scale. Existing coupling methods can be optimized by adjusting reaction conditions, using new catalysts, or exploring alternative synthesis routes. Moreover, based on different reaction mechanisms, there is potential for researching and developing new synthesis methods to discover more efficient and sustainable solutions.

The Wittig reaction is an effective approach for creating C=C double bonds with a defined geometric configuration. This reaction has been widely applied in the synthesis of Z3-12yl E2-4oate. According to *Scheme 1*, this method provides the highest synthesis yield of 39.3% through 3 steps to form intermediate (**1**) and subsequently Z3-12yl E2-4oate, which has an overall yield of 31.4% and is achieved in a total of 4 steps. This method primarily uses accessible and easily found raw materials. The Wittig reaction allows for control over the geometry of the C=C double bond, making it valuable for synthesizing biological compounds with specific *E/Z* isomer ratios. However, its disadvantages include typically multiple steps, lower total yields compared to the coupling method, and reduced purity of geometrical isomers.

Field test results indicate that the sweet potato weevil pheromone trap prepared from (**1**), as described in Scheme 1, demonstrated good efficiency, comparable to the results reported by Phan Kim Son (2016) (31.2±1.05 individuals/trap/week at a dose of 0.4 mg).[26] However, its efficiency is lower than that of the bait prepared via the coupling reaction we published in 2023, which showed an efficiency of 108.3±1.53 individuals/trap/week.[24]

4. CONCLUSION

This study presents a novel three-step synthesis of (**1**), with the Wittig reaction serving as the key step. Starting from readily available propan-1,3-diol, this synthesis achieves an overall yield of 39.3%. (**1**) is an important precursor for various insect pheromones, notably Z3-12yl E2-4oate, which is the sex pheromone of the sweet potato weevil (*Cylas formicarius*). Additionally, we have conducted a comprehensive review of existing synthetic approaches for Z3-12yl E2-4oate, focusing primarily on coupling and Wittig reactions. Table 1 provides a comparative analysis of these methods, highlighting their advantages and disadvantages in terms of yield, number of reaction steps, and reagent usage. Our Wittig-based synthesis of (**1**) offers a viable alternative for producing this key precursor. The successful synthesis of (**1**) has significant implications for insect pest management, as pheromone-based strategies such as mating disruption and mass trapping provide environmentally friendly alternatives to traditional chemical insecticides.

Acknowledgment. This study was supported by the determination of pheromone purity using GC-FID equipment from the Institute of Chemical Technology - VAST.

CRediT Authorship Contribution Statement. Le Van Dung: Conducted experiments and collected and processed field test results; Nguyen Thanh Danh: Performed formal analysis; Dang Chi Hien: Developed methodology, provided supervision, organized the research, writing, and completed the manuscript.

Declaration of Competing Interest. The authors declare that there are no competing financial interests or personal relationships that could be perceived to influence the work reported in this paper.

REFERENCES

1. J. F. Carvalho, G. D. Prestwich. Synthesis of omega-tritiated and omega-fluorinated analogs of the trail pheromone of subterranean termites, *J. Org. Chem.*, **1984**, *49*, 1251-1258.
2. A. Peppuy, A. Robert, E. Semon, C. Ginies, M. Lettere, O. Bonnard, C. Bordereau. (*Z*)-dodec-3-en-1-ol, a novel termite trail pheromone identified after solid phase microextraction from *Macrotermes annandalei*, *J. Insect. Physiol*., **2001**, *47*, 445-453.
3. Atlas of World Wildlife. *Galley Press*. ISBN 0862834902.
4. J. L. Clément, A. G. Bagnères, P. Uva, L. Wilfert, A. Quintana, J. Reinhard, S. Dronnet. Biosystematics of Reticulitermes termites in Europe: Morphological, chemical and molecular data, *Insectes Sociaux*, **2001**, *48*(3), 202-215.
5. M. Mario, F. Roberto. A Population Survey of the Italian Subterranean Termite *Reticulitermes lucifugus lucifugus* Rossi in Bagnacavallo (Ravenna, Italy), Using the Triple Mark Recapture Technique (TMR), *Zoological Science*, **1998**, *15*(6), 963-969. doi: 10.2108/zsj.15.963.
6. Poulsen M., Hu H., Li C., Chen Z., Xu L., Otani S. Complementary symbiont contributions to plant decomposition in a fungus-farming termite, *Proceedings of the*

National Academy of Sciences of the United States of America, **2014**, *111*(40), 14500-5. doi:10.1073/pnas.1319718111.

7. S. T. Elliot. Catalog of the Termites (Isoptera) of the World, *Smithsonian Institution*, **1949**, 227-228.
8. K. Md. Aslam, A. Wasim. Termites and Sustainable Management: Volume 2 - Economic Losses and Management, *Springer*, **2017**, 61-69. ISBN 978-3-319-68726-1.
9. E. Priesner. (*Z*)-3-tetradecenyl acetate as a sex-attractant component in Gelechiinae and Anomologinae (Lepidoptera: Gelechiidae), *Z. Naturforsch*. C., **1987**, *42*, 1352-1354.
10. J. Tabata, S. Kubota. Sex pheromone of the iris gelechiid moth *Monochroa divisella*. *Entomol. Exp. Appl.*, **2017**, *164*, 113-119.
11. C. F. Bosa, A. M. C. Prado, T. Fukumoto, M. Bengtsson, P. Witzgall, Pheromone-mediated communication disruption in Guatemalan potato moth, *Tecia solanivora. Entomol. Exp. Appl*., **2005**, *114*, 137-142.
12. B. F. Nesbitt, P. S. Beevor, A. Cork, D.R. Hall, R.M. Murillo, H.R. Leal. Identification of components of the female sex pheromone of the potato tuber moth, *Scrobipalpopsis solanivora. Entomol. Exp. Appl.*, **1985**, *38*, 81-85.
13. G. P. Bryning, J. Chambers, M. E. Wakefield. Identification of a sex pheromone from male yellow mealworm beetles, *Tenebrio molitor. J. Chem. Ecol.*, **2005**, *31*, 2721-2730.
14. M. Renou, C. Descoins, J. Y. Lallemand, E. Priesner, M. Lettere, M. Gallois. L'acetoxy-1 dodecene 3E, composant principal de la pheromone sexuelle de la teigne de la betterave: *Scrobipalpa ocellatella* Boyd, *Z. Angew. Entomol.*, **1980**, *90*, 275.
15. Bui Cong Hien. Will the mealworm Tenebrio molitor L. become a "new food'?, *Vietnam Journal of Science and Technology - Ministry of Science and Technology*, Electronic version, **2021**, ISSN 2615-9759, No. 13.05.2021.
16. R. R. Heath, J. A. Coffelt, P. E. Sonnet, F. I. Proshold, B. Dueben, J. H. Tumlinson. Identification of sex pheromone produced by female sweetpotato weevil, *Cylas formicarius elegantulus* (Summer), *J. Chem. Ecol.*, **1986**, *12*(6), 1489-1503.
17. S. Mithran, A. S. Subbaraman. Synthesis of (3*Z*)-dodecenyl-(*E*)-2-butenoate, the pheromone of sweet potato weevil, *Molecules*, **1999**, *4*, 159-164.
18. *Cylas formicarius* Report. Integrated Taxonomic Information System. Retrieved 2019-09-22.
19. *Cylas formicarius*. GBIF. Retrieved 2019-09-22.
20. *Cylas formicarius* species Information. BugGuide.net. Retrieved 2019-09-22.
21. C. C. Lo, M. D. Hung, C. J. Liu. Replacement of carcinogenic alkylating agent ethylene oxide in the synthesis of (*Z*)-3-dodecen-1-yl (*E*)-2-butenoate, sex pheromone of sweet potato weevil, *Cylas formicarius elegantulus* (Summers) and *Cylas formicarius* (F.), *Journal of Chemical Ecology*, **1992**, *18*(2), 95-103.
22. S. Tania, C. Quero, M. P. Bosch, R. Avilés, F. Coll, M. Renou, A. Guerrero, Electrophysiological and Behavioral Responses of a Cuban Population of the Sweet Potato Weevil to its Sex Pheromone, *Journal Chemical Ecology*, **2006**, *32*, 2177-2190.
23. J. C. Tseng, M. Y. Wu, W. L. Huang. Improved practical synthesis of the sex pheromone of female sweet potato weevil, *Cylas formicarius*, *International Journal of Applied Science and Engineering*, **2013**, *11*(3), 293-300.

24. Le Van Dung, Nguyen Cong Hao, Nguyen Thanh Danh, Ngo Le Ngoc Luong, Nguyen Thuy Duong, Nguyen Thi My Thao, Dang Chi Hien. Synthesis and field experiments of the female sex pheromone of sweet potato weevil, *Cylas formicarius*, *Vietnam Journal of Science and Technology*, **2023**, *61*(3), 344-354.

25. Nguyen Cong Hao, Nguyen Cuu Thi Huong Giang, Nguyen Cuu Khoa, and Nguyen Thanh Son. Synthesis and application of insect attractants in Vietnam, *Resources, Conservation and Recycling*, **1996**, *18*, 59-68.

26. Phan Kim Son. Research on sex pheromones and parasitic fungi in preventing sweet potato weevil (*Cylas formicarius* Fabricius) in the Mekong Delta, Doctoral thesis majoring in Plant Protection, Cantho University, **2016**.

Corresponding author: **Dang Chi Hien**
Institute of Chemical Technology
Vietnam Academy of Science and Technology
1A, TL29 Street, District 12, Ho Chi Minh City, Vietnam
Email: dangchihien@gmail.com.

CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE LEAVES OF *Aralia dasyphylla* Miq. (Araliaceae)

Nguyen Thi Thu Hien[1], Nguyen Thi Dieu Thuan[1], Pham Van Huyen[1], Tran Thi Ngoc Hanh[1], Nguyen Huu Huong Duyen[1], Nguyen Huu Toan Phan[1*]

Tay Nguyen Institute of Scientific Research, Vietnam Academy of Science and Technology, 116, Xo Viet Nghe Tinh, Da Lat, Lam Dong, Vietnam

Received 10 Feb 2025; Revised 20 Feb 2025; Accepted 1 Mar 2025

Abstract

Aralia dasyphylla Miq. is a plant species belonging to the Araliaceae family and has traditionally been used as medicine in Vietnam and China. Phytochemical investigation of the methanol extract of its leaves, collected from Lam Dong province, led to the isolation of six known compounds: acutoside A (**1**), araliasaponin VIII (**2**), caffeic acid (**3**), methyl caffeate (**4**), 2-hydroxy-4-methoxybenzoic acid (**5**), and methyl 3,4-dihydroxybenzoate (**6**) using various chromatographic techniques. The structures of all compounds were elucidated by analyzing their spectroscopic data (1D, 2D-NMR, ESI-MS) and comparing them with those reported in the literature. This is the first report of these compounds being isolated from this plant.

Keywords: *Aralia dasyphylla* Miq., acutoside A, araliasaponin VIII, caffeic acid, methyl caffeate, 2-hydroxy-4-methoxybenzoic acid, methyl 3,4-dihydroxybenzoate.

1. INTRODUCTION

The plant genus *Aralia* (family Araliaceae) includes approximately 70 species, several of which have been used in traditional remedies to treat ailments like gastric ulcers, liver disorders, diabetes, and to serve as a tonic. Phytochemical studies on *Aralia* species have resulted in the identification of over 290 compounds from diverse chemical classes, including triterpenoid saponins, diterpenoids, acetylenic lipids, flavonoids, and sterols.[1,2]

Aralia dasyphylla Miq. is a small tree (2-10 m), native to southern China, Lang Son province, and Lam Dong province in Vietnam, typically found at altitudes between 700 and 1,500 m.[3] The root of *A. dasyphylla* has been used as a herbal medicine for treating hepatitis and diabetes in China,[4] and rheumatoid arthritis in Vietnam.[5] Previous studies have shown that the root of *A. dasyphylla* contains triterpenoid saponins, triterpenoids, and sterols.[4,6] As part of the preliminary investigation of the leaves of this species, flavonoids and saponins were isolated.[7,8] This study presents the isolation and structural identification of six known compounds, including acutoside A (**1**), araliasaponin VIII (**2**), caffeic acid (**3**), methyl caffeate (**4**), 2-hydroxy-4-methoxybenzoic acid (**5**), and methyl 3,4-dihydroxybenzoate (**6**) from the methanol extract of the leaves of *A. dasyphylla.*

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. General experimental procedures

The 1D-NMR and 2D-NMR spectra were recorded on a Brucker AVANCE III HD 500, FT-NMR spectrometer (500 MHz for ^{1}H-NMR and 125 MHz for ^{13}C-NMR). Column chromatography (CC) was performed using silica gel (Kieselgel 60, 70-230 mesh, and 230–400 mesh, Merck, Darmstadt, Germany) and reversed-phase silica gel (ODS-A, 12 nm, S-150 µm, YMC Co., Ltd., Japan) as stationary phases. Thin-layer chromatography (TLC) was

carried out on pre-coated silica gel 60 F_{254} (1.05554.0001, Merck) and RP-18 F_{254S} plates (1.15685.0001, Merck). Electrospray ionization (ESI) mass spectra were acquired on Agilent 1100 LC/MS system. Compounds were visualized by spraying with 10% aqueous H_2SO_4 followed by heating for 3-5 minutes.

2.2. Plant material

The leaf samples of *Aralia dasyphylla* Miq. were collected from the Langbiang Mountain area in Lam Dong province, Vietnam, in July 2015. Identification was performed by Dr. Nong Van Duy from the Tay Nguyen Institute for Scientific Research, VAST. A reference specimen (TN3/160) has been stored at the Tay Nguyen Institute for Scientific Research, VAST.

2.3. Extraction and isolation

The powdered leaves of *A. dasyphylla* (2.2 kg) were extracted with methanol (3 times × 15 L) at room temperature. The methanolic extracts were filtered, combined, and concentrated under reduced pressure to yield 203.0 g. This extract was then suspended in water (1 L) and partitioned in turn with *n*-hexane (H), chloroform ($CHCl_3$), and ethyl acetate (EtOAc), resulting in the following fractions: *n*-hexane (22.0 g), $CHCl_3$ (5.0 g), EtOAc (17.0 g), and the water layer.

The chloroform extract (5.0 g) was subjected to silica gel column chromatography (CC) and eluted with $CHCl_3$/MeOH (from 1:0 to 0:1, v/v), yielding five subfractions (C1-C5). Subfraction C1 (334 mg) was separated by silica gel CC, eluting with $CHCl_3$/MeOH (20:1, v/v), and then purified by RP-18 column chromatography using MeOH/H_2O (1:1, v/v) as elution solvent, resulting in compound **6** (7.0 mg).

The ethyl acetate extract (17.0 g) was subjected to silica gel CC and eluted with $CHCl_3$/MeOH (1:1, v/v) mixture, yielding nine subfractions (E1-E9). Subfraction E4 (0.7 g) was further purified using silica gel CC, eluting with CH_2Cl_2/acetone/MeOH (5:1:0.1, v/v/v), followed by Sephadex LH-20 CC with MeOH/H_2O (1:1, v/v) mixture to give compound **3** (10 mg) and **4** (4 mg). Subfraction E5 (0.7 g) was further purified on silica gel CC with CH_2Cl_2/acetone (15:1, v/v) followed by ODS-A CC with MeOH/H_2O (1:2.5, v/v) to give compound **5** (20 mg). Subfraction E8 (6.8 g) was applied to silica gel column chromatography using a CH_2Cl_2/acetone/MeOH (2:1:0.1, v/v/v) mixture, followed by Sephadex LH-20 CC with a gradient of MeOH in H_2O (25 to 100 %), resulting in the isolation of compounds **1** (25 mg) and **2** (9 mg).

Acutoside A (**1**)**:** [9,10] White powder, molecular formula: $C_{42}H_{68}O_{13}$. ESI-MS: *m/z* 803.6 $[M+Na]^+$, M = 780. ^{1}H-NMR (CD_3OD, 500 MHz) and ^{13}C-NMR (CD_3OD, 125 MHz) in Table 1.

Araliasaponin VIII (**2**)**:**[11] White solid, molecular formula: $C_{52}H_{84}O_{21}$. IR (ν_{max}) cm^{-1}: 3418, 2936, 2881, 1694, 1082. ESI-MS: *m/z* 1068.5 $[M+Na]^+$. M = 1044. ^{1}H-NMR (CD_3OD, 500 MHz) and ^{13}C-NMR (CD_3OD, 125 MHz) in Table 1.

Caffeic acid (**3**)**:**[14] White solid, molecular formula $C_9H_8O_4$, IR (ν_{max}) cm^{-1}: 3424, 3233, 1645, ESI-MS: *m/z* 181.0 $[M+H]^+$, *m/z* 179.0 $[M-H]^-$, M= 180. ^{1}H-NMR (500 MHz, CD_3OD), δ_H (ppm): 7.45 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-1'), 7.04 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 6.98 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-6), 6.75 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5), 6.24 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-2'). ^{13}C-NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_C (ppm): 126.8 (C-1), 114.6 (C-2), 145.6 (C-3), 148.3 (C-4), 115.7 (C-5), 121.1 (C-6), 144.5 (C-1'), 114.6 (C-2'), 166.2 (C-3').

Methyl caffeate (**4**)**:**[12] White amorphous powder, molecular formula $C_{10}H_{10}O_4$, IR (ν_{max}) cm^{-1}: 3379, 3045, 1687. ESI-MS: *m/z* 195.1 $[M+H]^+$, *m/z* 192.9 $[M-H]^-$, M = 194. ^{1}H-

NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_H (ppm): 7.55 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-1'), 7.05 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 6.95 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-6), 6.79 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 6.26 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-2'), 3.77 (3H, s, OCH_3). ^{13}C-NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_C (ppm): 127.7 (C-1), 115.2 (C-2), 146.8 (C-3), 149.5 (C-4), 116.5 (C-5), 122.9 (C-6), 146.9 (C-1'), 114.9 (C-2'), 168.9 (C-3'), 52.0 (OCH_3).

2-Hydroxy-4-methoxybenzoic acid (5):[13] White needle-shaped crystals, molecular formula $C_8H_8O_4$, IR (ν_{max}) cm^{-1}: 3416, 2978, 1618. ESI-MS: *m/z* 169.1 $[M+H]^+$, M = 168. ^{1}H-NMR (CD_3OD, 500 MHz) δ_H (ppm): 7.41 (1H, t, J = 8.5 Hz, H-6), 6.61 (1H, d, J = 1.0 Hz, H-3), 6.61 (1H, dt, J = 7.5, 1.0 Hz, H-5), 3.98 (3H, s, OCH_3). ^{13}C-NMR (CD_3OD, 125 MHz) δ_C (ppm): 104.0 (C-1), 161.0 (C-2), 103.1 (C-3), 164.3 (C-4), 111.6 (C-5), 136.3 (C-6), 172.9 (C-1'), 57.2 (OCH_3).

Methyl 3,4-dihydroxybenzoate (6):[14] White amorphous powder, molecular formula $C_8H_8O_4$, IR (ν_{max}) cm^{-1}: 3420, 2967, 1677, 1634. ESI-MS: *m/z* 169.1 $[M+H]^+$. M = 168. ^{1}H-NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_H (ppm): 7.44 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 7.43 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-6), 6.81 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 3.84 (3H, s, OCH_3). ^{13}C-NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_C (ppm): 122.6 (C-1), 117.4 (C-2), 146.2 (C-3), 151.7 (C-4), 115.9 (C-5), 123.6 (C-6), 168.9 (C-1'), 52.2 (OCH_3).

3. RESULTS AND DISCUSSION

Compound **1** was isolated as a white solid. The ESI-MS spectrum of **1** showed a pseudo-molecular ion peak $[M+Na]^+$ at 803.6, indicating a molecular mass of 780, consistent with the molecular formula $C_{42}H_{68}O_{13}$. The ^{1}H-NMR spectrum of compound **1** showed a signal for an olefinic proton at δ_H 5.26 (t, J = 3.0 Hz, H-12) and signals for seven methyl groups at δ_H 1.06 (s, H-23), 0.85 (s, H-24), 0.96 (s, H-25), 0.83 (s, H-26), 1.18 (s, H-27), 0.93 (s, H-29), and 0.96 (s, H-30). In addition, signals for two anomeric protons appeared at δ_H 4.38 (d, J = 8.0 Hz, H-1') and 4.88 (d, J = 8.0 Hz, H-1"), along with the hydroxymethine groups of the sugar moieties in the 3-5 ppm region. The ^{13}C-NMR and the DEPT spectrum revealed signals for the two olefinic carbons at δ_C 123.6 (C-12) and 145.2 (C-13), indicative of an olean-12-en structure. The spectrum also showed signals for the seven methyl groups, and two anomeric carbons at δ_C 106.4 (C-1', Glc I) and 104.4 (C-1", Glc II). The analysis of these signals suggests that the molecule contains two glucose units, each with a β-D configuration. The HMBC spectrum demonstrated s between the anomeric proton at δ_H 4.38 (H-1', Glc I) and carbon C-3 (δ_C 90.9) and the anomeric proton at δ_H 4.88 (H-1", Glc II) with carbon C-2' (δ_C 82.0, Glc I), confirming that the glucosyl unit was attached to the olean-12-en skeleton at position C-3. Based on the spectral data and comparison with the literature,[9,10] compound **1** was identified 3-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl, also known as acutoside A.

Compound **2** was isolated as a colourless solid. The ESI-MS spectrum of compound **2** displayed a pseudo molecular ion peak $[M+Na]^+$ at *m/z* 1068.5, indicating a molecular mass of 1044, consistent with the molecular formula $C_{52}H_{84}O_{21}$. Spectral analysis of compound **2** also revealed the presence of triterpene structures and sugar moieties. The ^{1}H-NMR spectrum of compound **2** indicated an ursane-type structure, with signals for seven methyl groups and an olefinic group. Additionally, signals for the anomeric protons of four sugar units were observed at δ_H 4.41 (d, J = 7.0 Hz, H-1', Ara), 4,70 (d, J = 8.0 Hz, H-1", Xyl), 4.61 (d, J = 7.5 Hz, H-1'", Glc I), and 5.41 (d, J = 8.0 Hz, H-1"", Glc II), along with signals for the hydroxymethine groups in the δ_H 3.0 to 5.0 ppm region. The ^{13}C-NMR, combined with the DEPT data, revealed signals for a carboxyl group at δ_C 178.0 and a pair of olefinic carbons at δ_C 127.3 (C-12) and 139.1 (C-13). The signals for the anomeric carbons of the sugars appeared at δ_C 106.0 (C-1', Ara), 104.9 (C-1", Xyl), 105.0 (C-1'", Glc I), 95.7 (C-1"", Glc II). The HMBC spectrum of compound **2**

showed correlations between the anomeric proton at δ_H 4.41 (H-1', Ara) and C-3 (δ_C 91.1), the anomeric proton at δ_H 4.70 (H-1", Xyl) and carbon C-2' (δ_C 77.9) and the anomeric proton at δ_H 4.61 (H-1"', Glc-I) and carbon C-3' (δ_C 84.0, Ara), confirming the attachment of the glucosyl unit at the C-3' position of Ara. Thus, the sugar moiety ([Xyl (1→2)], [Glc (1→3)] Ara) was linked to the aglycone skeleton at position C-3. Additionally, correlations between the anomeric proton at δ_H 5.41 (H-1"", Glc II) and carbon C-28 (δ_C 178.1) confirmed the attachment of a sugar group at position C-28. Based on the spectral data and comparison with the literature,[11] compound **2** was identified as araliasaponin VIII.

Compound **3** was obtained as a white solid. The ^{1}H-NMR spectrum also revealed signals corresponding to a 1,3,4-trisubstituted benzene ring at δ_H 7.04 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 6.98 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-6), and 6.75 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5)], along with the olefinic signal at δ_H 7.45 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-1') and 6.23 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-2'). The ^{13}C and DEPT spectra confirmed the presence of nine signals including five methine carbons, and four quaternary carbons.

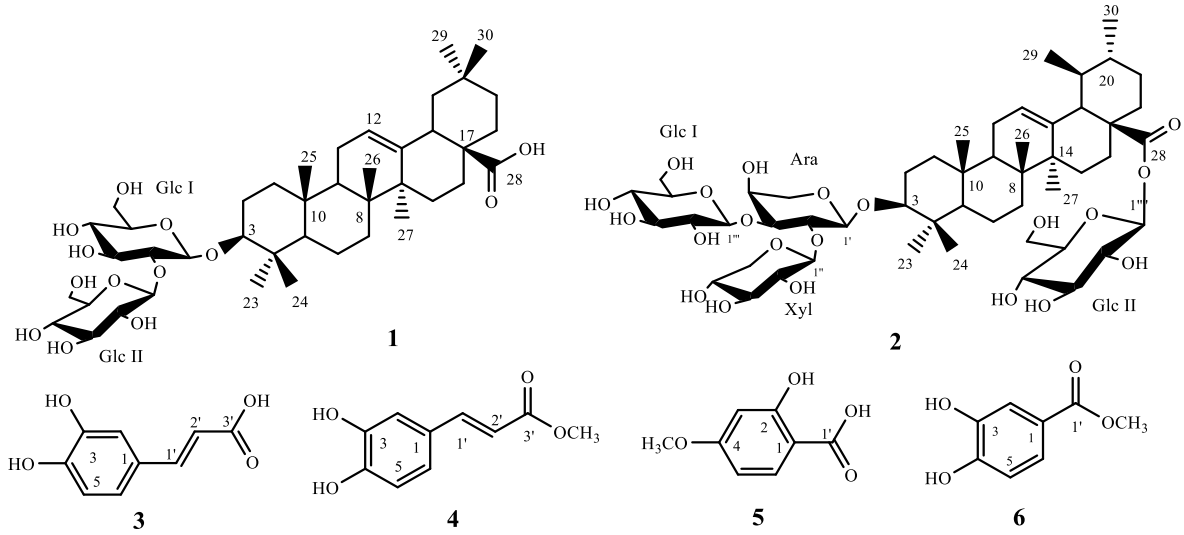


Figure 1. Structure of compounds **1-6**

In the HMBC spectrum, the correlations were observed between the proton H-1' (δ_H 7.45) and carbons C-2 (δ_C 114.6), C-3 (δ_C 145.6), C-5 (δ_C 115.7) and the correlation between the proton H-2' (δ_H 6.23) and carbons C-2, C-1' (δ_C 144.5), and C-3' (δ_C 166.2). From the above spectral data and comparison with the literature,[15] compound **3** was identified as caffeic acid with its molecular formula being $C_9H_8O_4$.

Compound **4** was obtained as a white amorphous powder. The structure of compound **5** was very similar to that of compound **3**, except for the presence of a methoxy group at δ_H 3.77 (3H, s). The ^{13}C-NMR and DEPT spectra confirmed the presence of ten signals, including five methine carbons, four quaternary carbons, and one methoxy group. The HMBC spectrum confirmed the correlation between δ_H 7.55 (H-1') and carbons C-2' (δ_C 114.9), C-1 (δ_C 127.7), C-2 (δ_C 115.2), C-3' (δ_C 168.9), as well as the correlation between the proton at δ_H 6,26 (H-2') and the carbons C-1 and C-3'. The correlation between the proton at δ_H 3.77 (3H, s, OCH_3) and carbon C-3' (δ_C 168.9) allowed for the determination of the position of the methoxy group attachment at C-3'. Based on the above spectral data and comparison with the literature [12] compound **4** was identified as methyl caffeate with its molecular formula being $C_{10}H_{10}O_4$.

Compound **5** was isolated as white needle-shaped crystals. The ^{1}H-NMR spectrum of **6** showed signals for three protons in the aromatic region: δ_H 7.41 (1H, t, J = 8.5 Hz, H-6), 6.61 (1H, d, J =1.0 Hz, H-3), 6.61 (1H, dt, J = 7.5, 1.0 Hz, H-5) and a methoxy group at δ_H 3.98

(3H, s, OCH_3). The ^{13}C-NMR, combined with the DEPT spectrum confirmed the presence of eight carbon signals, including three methine carbons in the aromatic ring, three carbons in the aromatic ring not attached to hydrogen, one carbonyl carbon at δ_C 172.9, and one methoxy carbon. The HMBC spectrum showed correlations between the proton H-6 (δ_H 7.41) and carbons C-1 (δ_C 104.0), C-2 (δ_C 164.3), C-3 (δ_C 103.1), C-4 (δ_C 161.0), C-5 (δ_C 111.6), as well as correlations between H-5 and H-3 (δ_H 6.61) and carbons C-1, C-2, C-3, C-4, C-6 (δ_C 136.3), C-1' (δ_C 172.9). The correlations between the methoxy group at δ_H 3.98 and carbon C-4 (δ_C 161.0) confirmed the attachment of the methoxy group at position C-4. Based on the spectral data and comparison with the literature, [13] it can be concluded that the compound was identified as 2-hydroxy-4-methoxybenzoic acid with the molecular formula $C_8H_8O_4$.

Compound **6** was isolated as a brown precipitate. The ESI-MS spectrum in positive mode showed an ion peak $[M+H]^+$ at *m/z* 169.0, indicating a molecular weight MW of 168, consistent with the molecular formula $C_8H_8O_4$. The ^{1}H-MNR spectrum of **6** displayed signals for three protons in an ABX pattern δ_H 7.44 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 7.43 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-6), 6.81 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5) and a methoxy group at δ_H 3.84 (3H, s, OCH_3). The ^{13}C-NMR and DEPT spectrum of **7** confirmed the presence of eight carbon signals, including one carbonyl carbon at δ_C 168.9, two carbons attached to hydroxyl groups in the aromatic ring at δ_C 146.2 and 151.7, three methine carbons at δ_C 123.6, 117.4, and 115.9, one quaternary carbon at δ_C 122.6 and one methoxy carbon at δ_C 52.2. Based on the spectral data and the literature,[14] compound **6** was identified as methyl 3,4-dihydroxybenzoate.

Table 1. The NMR data of compounds **1-2**

Position		**1**		**2**
	δ_C[b,c]	**δ_H[b,d] mult., (*J* in Hz)**	**δ_C[b,c]**	**δ_H[b,d] mult., (*J* in Hz)**
1	39.8	1.60 m/0.99 m	40.0	1.64 m/0.97 m
2	26.9	1.90 m/1.68 m	27.2	1.83 m/1.73 m
3	90.9	3.16 dd (11.5, 4.5)	91.1	3.12 dd (12.5, 4.5)
4	40.0	-	40.5	-
5	57.0	0.80 d (11.5)	57.1	0.77 d (11.5)
6	19.3	1.59 m/1.41 m	19.3	1.55 m/1.40 m
7	33.9	1.75 m/1.53 m	34.3	1.44 m/1.32 m
8	40.5	-	40.7	-
9	49.0	1.59 m	49.0	1.55 t (9.0)
10	37.9	-	37.9	
11	24.1	1.60 m/2.03 m	24.6	1.93 m
12	123.6	5.26 t (3.0)	127.3	5.27 t (3.5)
13	145.2	-	139.1	-
14	42.8	-	43.3	-
15	28.8	1.80 m/1.11 m	28.9	1.82 m/1.10 m
16	24.5	1.90 m	25.3	2.09 m/1.78 m
17	47.7	-	48.0	-
18	42.7	2.87 dd (11.5, 4.0)	54.2	2.25 d (11.5)
19	47.3	1.71 m/1.16 m	40.3	1.42 m
20	31.6	-	40.4	0.99 m
21	34.9	1.39 m/1.21 m	31.7	1.53 m/1.37 m

Position		1		2
	δ_C[b,c]	δ_H[b,d] mult., (*J* in Hz)	δ_C[b,c]	δ_H[b,d] mult., (*J* in Hz)
22	34.0	1.50 m/1.32 m	37.5	1.78 m/1.64 m
23	28.5	1.06 s	28.4	1.07 s
24	17.0	0.85 s	16.7	0.86 s
25	15.9	0.96 s	16.0	0.97 s
26	17.8	0.83 s	17.9	0.86 s
27	26.4	1.18 s	24.1	1.13 s
28	*	-	177.9	-
29	33.6	0.93 s	17.7	0.92 d (6.5)
30	24.0	0.96 s	21.6	0.98 d (6.5)
1'	106.4	4.38 d (8.0)	106.0	4.41 d (7.0)
2'	82.0	3.78 t (9.0)	77.6	3.88 m
3'	76.5	3.56 t (9.0)	84.0	3.86 m
4'	71.0	3.37 m	69.6	4.08 br s
5'	78.0	3.37 m	66.2	3.86 m 3.57 d (12.0)
6'	63.3	3.70 dd (12.0, 3.5) 3.65 dd (12.0, 5.0)		
1"	104.4	4.88 d (8.0)	104.9	4.70 d (8.0)
2"	75.6	3.28 t (8.5)	75.9	3.14 m
3"	79.0	3.81 m	78.5	3.37 m
4"	71.0	3.37 m	71.5	3.45 m
5"	78.2	3.25 t (6.5)	66.9	3.80 dd (13.0, 5.5) 3.17 m
6"	62.3	3.72 dd (12.0, 5.0) 3.84 dd (12.0, 3.5)		
1"'			105.0	4.61 d (7.5)
2"'			75.2	3.32 m
3"'			78.3	3.37 m
4"'			71.2	3.37 m
5"'			78.3	3.44 m
6"'			62.4	3.84 m 3.89 dd (12.0, 4.0)

Measured in [a]$CDCl_3$, [b]CD_3OD, [c]125 MHz, [d]500 MHz, *No detection.

4. CONCLUSION

Six compounds were isolated from the methanol extract of the leaves of *Aralia dasyphylla* Miq.. These include acutoside A (**1**), araliasaponin VIII (**2**), caffeic acid (**3**), methyl caffeate (**4**), 2-hydroxy-4-methoxybenzoic acid (**5**), and methyl 3,4-dihydroxybenzoate (**6**). The chemical structures were determined through 1D and 2D-NMR, and ESI-MS spectroscopy, along with comparison to previously published literature. All the compounds have been isolated from this plant for the first time.

Acknowledgements. This work was funded by a project from the Vietnam Academy of Science and Technology project (code: VAST04.02/17-18).

REFERENCES

1. Y. Xu, J. Liu, Y. Zeng, S. Jin, W. Liu, Z. Li, X. Qin, Y. Bai. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, toxicity and quality control of medicinal genus *Aralia*: A review, *J. Ethnopharmacol*, **2022**, *284*, 114671.
2. J. Clement, S.-H. Chow. The Medicinal Chemistry of Genus *Aralia*, *Curr. Top. Med. Chem.*, **2014**, *14*(24), 2783-2801.
3. P. H. Ho. An Illustrated Flora of Vietnam, Vol. 2, *Young Publisher*, Vietnam, 489-525, **1999**.
4. K. Xiao, Y. H. Yi, Z. Z. Wang, H. F. Tang, Y. Q. Li, H. W. Lin. A cytotoxic triterpene saponin from the root bark of *Aralia dasyphylla*, *J. Nat. Prod.*, **1999**, *62*, 1030-1032.
5. N. T. Ban. *List of Plant Species of Vietnam*, Vol. 2, Agriculture Publisher, Vietnam, 1069, **2003**.
6. Y. H. Yi, J. Q. Gu, K. Xiao, Z. Z. Wang, H. W. Lin. Studies on triterpenoids and their glycosides from *Aralia dasyphylla* Miq, *Acta. pharmaceutica Sinica*, **1997**, *32*(10), 769-772.
7. N. T. T. Hien, N. T. D. Thuan, P. V. Huyen, T. T. A. Hong, N. H. T. Phan. Flavonoids from the leaves of *Aralia dasyphylla* Miq. (Araliaceae), *Vietnam J. Chem.*, **2018**, *56*(6), 695-699.
8. N. T. T. Hien, N. H. H. Duyen, N. T. D. Thuan, T. T. N. Hanh, P. V. Huyen, H. T. N. Anh, N. X. Ha, K. P. Ngoc, N. M. Cuong, N. H. T. Phan. *In vitro* and *in silico* cytotoxic activities of triterpenoids from the leaves of *Aralia dasyphylla* Miq. and the assessment of their ADMET properties, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, **2022**, *41*(12), 5863-5871.
9. Y. Zhang, Y. Peng, L. Li, L. Zhao, Y. Hu, C. Hu, S. Song. Studies on cytotoxic triterpene saponins from the leaves of *Aralia elata*, *Food Chem.*, **2013**, *138*(1), 208-213.
10. T. Nagao, R. Tanaka, Y. Iwase, H. Hanazono, H. Okabe. Studies on the constituents of *Luffa acutangula* ROXB. I. Structures of Acutosides A-G, oleanane-type triterpene saponins Isolated from the herb, *Chem. Pharm. Bull.*, **1991**, *39*(3), 599-606.
11. T. Miyase, K. I. Shiokawa, D. M. Zhang, A. Ueno. Araliasaponins I-XI, Triterpene saponins from the roots of *Aralia decaisneana*, *Phytochemistry*, **1996**, *41*, 1411-1418.
12. C. Balachandran, V. Duraipandiyan, N. A. Al-Dhabi, K. Balakrishna, N. P. Kalia, V. S. Rajput, I. A. Khan, S. Ignacimuthu. Antimicrobial and antimycobacterial activities of methyl caffeate isolated from *Solanum torvum* Swartz. fruit, *Indian J. Microbiol.*, **2012**, *52*(4), 676-681.
13. K. N. Scott. Carbon-13 nuclear magnetic resonance of biologically important aromatic acids. I. Chemical shifts of benzoic acid and derivatives, *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, *94*(24), 8564-8568.
14. N. Sharma, A. Sharma, B. Singh, J. Singh, S. Kaur, R. Bhardwaj, G. Bhatia, M. Landi. Isolation of phytochemicals from *Bauhinia variegata* L. bark and their *in vitro* antioxidant and cytotoxic potential, *Antioxidants (Basel)*, **2019**, *8*(10), 492.
15. S. W. Chang, K. H. Kim, I. K. Lee, S. U. Choi, S. Y. Ryu, K. R. Lee. Phytochemical constituents of *Bistorta manshuriensis*, *Nat. Prod. Sci.*, **2009**, *15*, 234-240.

Corresponding author: **Nguyen Huu Toan Phan**
Tay Nguyen Institute of Scientific Research
Vietnam Academy of Science and Technology
116, Xo Viet Nghe Tinh, Da Lat, Lam Dong, Vietnam
Email: phannht@tni.ac.vn.

CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE ROOTS OF *Polyscias fruticosa* L. Harms. (Araliaceae)

Pham Van Huyen, Tran Thi Ngoc Hanh, Nguyen Thi Dieu Thuan, Nguyen Huu Huong Duyen, Nguyen Thi Thu Hien, Nguyen Huu Toan Phan*

Tay Nguyen Institute of Scientific Research, Vietnam Academy of Science and Technology, 116, Xo Viet Nghe Tinh, Da Lat, Lam Dong, Vietnam

Received 10 Feb 2025; Revised 20 Feb 2025; Accepted 1 Mar 2025

Abstract

Polyscias fruticosa (L.) Harms., a plant belonging to the Araliaceae family, is widely distributed in Vietnam. The root of this plant has been used as a tonic and for the treatment of various diseases. Using various chromatographic techniques, seven compounds were isolated, including 3-*O*-[*β*-D-glucopyranosyl-(1→3)-*α*-L-arabinopyranosyl] oleanolic acid-28-*O*-*β*-D-glucopyranosyl ester (**1**), araliasaponin IV (**2**), glyceryl monostearate (**3**), stigmasterol (**4**), daucosterol (**5**), thymine (**6**), and quercetin (**7**) from the root of this plant. Their structures were identified by 1D, 2D-NMR analysis, and compared with those reported in previous literature.

Keywords: *Polyscias fruticosa*, 3-*O*-[*β*-D-glucopyranosyl-(1→3)-*α*-L-arabinopyranosyl] oleanolic acid-28-*O*-*β*-D-glucopyranosyl ester, araliasaponin IV, glyceryl monostearate, stigmasterol, daucosterol, thymine, quercetin.

1. INTRODUCTION

The genus *Polyscias*, belonging to the Araliaceae family, comprises approximately 116 species. These species are typically perennial shrubs and are primarily distributed across the tropics and subtropics with the highest diversity found in the Pacific Islands. *Polyscias* species have a wide range of traditional medicinal applications. For example, *P. fulva* is used as a tonic and for the treatment of obesity, mental disorders, fever, malaria, and venereal diseases, *P. cumingiana* is known for its stimulant and antiviral properties; *P. scutellaria* has stomachic, astringent and disinfectant effects; *P. samoensis* is used as a poultice for treating skin ailments; and *P. guilfoylei* is associated with dermatitis.[1] In addition to these uses, many *Polyscias* species are valued for their potential medicinal properties, including therapeutic activities such as anti-inflammatory, antitoxin,[2] antibacterial,[3] neuroprotective[4] and diuretics.[5] The phytochemical investigation of *Polyscias* species has revealed a range of bioactive compounds, such as phenolic compounds, saponins, lignans, propionic acid derivatives, sterols, polyacetylenes cyanogenic glycosides, cerebrosides, and essential oils.[1]

Polyscias fruticosa is commonly used in traditional medicine in Vietnam. Its root is used to boost energy, improve vitality, and treat issues like weakness, tiredness, and indigestion,[6] as well as Parkinson's disease.[7] Various parts of *P. fruticosa* have been studied for chemical constituents in recent decades. Many studies have shown that *P. fruticosa* contains various bioactive compounds, including essential oils,[8] polyacetylene,[9] triterpene glycoside, sterol, tannins, alkaloids,[10,11] and other compounds. Its triterpene glycosides are mainly oleanane-type compounds. This study presents the isolation and structural elucidation of seven compounds **1**-**7** from the roots of *P. fruticosa*, cultivated in Bao Lam district, Lam Dong province, Vietnam.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. General experimental procedures

The nuclear magnetic resonance (NMR) spectra were recorded on a Bruker AVANCE III HD spectrometer (Bruker, Billerica, MA, USA) (500 MHz for ^{1}H-NMR and 125 MHz for ^{13}C-NMR) with tetramethylsilane (TMS) as the internal reference. Electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS) was performed on an Agilent 1100 LC/MS system. Column chromatography (CC) was carried out using silica gel (230-400 mesh, Merck), C18-reversed phase silica gel (100 Å pore size, Fluka), and Sephadex LH-20 gel (25-100 µm, Pharmacia Fine Chemicals Co. Ltd.). For thin-layer chromatography (TLC), pre-coated silica gel 60 F_{254} (1.05554.0001, Merck) and RP-18 F_{254S} plates (1.15685.0001, Merck) were used. All compounds were visualized by spraying with 10% aqueous H_2SO_4 and heating for 3-5 minutes.

2.2. Plant material

The roots of *Polyscias fruticosa* L. Harms. were cultivated in Bao Lam district, Lam Dong province, Vietnam, in 2018 and identified by Dr. Nong Van Duy from the Tay Nguyen Institute for Scientific Research, Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam. A reference specimen (PF/2020) has been stored at the Tay Nguyen Institute for Scientific Research, VAST.

2.3. Extraction and isolation

The dried roots of *P. fruticosa* (2.0 kg) were extracted with 96% methanol (3 times × 15L) at room temperature. The combined methanol extracts were concentrated under reduced pressure, yielding a residue of 166.0 g. The residue was suspended in water (2 L) and then partitioned in turn with *n*-hexane, chloroform, and ethyl acetate to obtain respective extracts: *n*-hexane (16.2 g), chloroform (6.9 g), ethyl acetate (25.1 g), and water layer (2 L).

The *n*-hexane extract (16.2 g) was separated by chromatography column (CC) on a silica gel with stepwise gradient elution of *n*-hexane/ethyl acetate (1:0 to 0:1, v/v) to yield eight fractions, H1-H8. Fraction H7 (6.0 g) was further separated by silica gel CC eluting with *n*-hexane/dichloromethane/acetone (4:1:1, v/v/v) to give seven subfractions, H7.1-H7.7. Subfraction H7.7 (298 mg) was subjected to silica gel CC eluted with dichloromethane/acetone (7:1, v/v) to give four subfractions, H7.7.1-H7.7.4. Subfraction H7.7.2 (160 mg) was purified by Sephadex LH-20 CC with methanol/water (4:1 to 1:0, v/v) to yield compound **3** (12 mg). Fraction H4 (2.6 g) was separated by silica gel CC eluting with *n*-hexane/ethyl acetate (5:1, v/v) to give four subfractions, H4.1-H4.4. Subfraction H4.1 (39 mg) was purified by the RP-C18 column eluted with methanol/water (1:4 to 1:0, v/v) to afford compound **4** (25 mg).

The chloroform extract (6.9 g) was passed through a silica gel column using a gradient elution solvent of chloroform/methanol, to give eleven fractions, C1-C11. Fraction C5 (612 mg) was further purified using a Sephadex LH-20 gel column eluted with methanol/water (1:4 to 1:0, v/v), yielding six subfractions, C5.1-C5.6. Subfraction C5.3 (124 mg) was then passed through a silica gel column eluted with chloroform/methanol (7:1, v/v) to afford compound **7** (12 mg).

The ethyl acetate extract (25.1 g) was subjected to chromatography on a silica gel column with stepwise gradient elution of chloroform/methanol (1:0 to 0:1, v/v) to yield twelve fractions, E1-E12. Fraction E3 (625 mg) was separated by silica gel CC with chloroform/methanol (10:1, v/v) to give four subfractions, E3.1-E3.4. Subfraction E3.1 (366 mg) was recrystallized in MeOH to obtain compound **5** (23 mg). Fraction E5 was separated by sephadex LH-20 CC with methanol/water (1:1 to 1:0, v/v) to give six subfractions, E5.1-

E5.6. Subfraction E5.4 (124 mg) afforded compound **6** (12 mg) after subjecting it to silica gel column eluted with dichloromethane/acetone (2:1, v/v), followed by sephadex LH-20 CC with methanol/water (1:1 to 1:0, v/v).

The water layer was passed through Diaion HP-20 CC and eluted first with water and then with methanol/water (1:3 to 1:0, v/v) to obtain six fractions, W1-W6. Fraction W5 (37.9 g) continued separated on silica gel CC with stepwise gradient elution of chloroform/methanol (1:0 to 0:1, v/v) to yield five subfractions, W5.1-W5.5. Subfraction W5.2 (298 mg) was subjected to silica gel CC with dichloromethane/acetone (1:3, v/v) to give nine subfractions, W5.2.1-W5.2.9. Subfraction W5.2.7 (52 mg) was purified by silica gel CC with ethyl acetate/methanol (3:1, v/v) to afford compound **1** (5 mg). Subfraction W5.5 (253 mg) was separated by silica gel CC with chloroform/methanol (5:1, v/v) and purified by RP-18 CC with methanol/water (1:1 to 0:1, v/v) to give compound **2** (10 mg).

3-*O*-[*β*-D-glucopyranosyl-(1→3)-*α*-L-arabinopyranosyl] oleanolic acid-28-*O*-*β*-D-glucopyranosyl ester (1):[12] Amorphous solid, molecular formula $C_{47}H_{76}O_{17}$, ESI-MS *m/z* 913.09 $[M+H]^+$, M = 912. ^{1}H-NMR (pyridine-d_5, 500 MHz) and ^{13}C-NMR (pyridine-d_5, 125 MHz): see Table 1.

Araliasaponin IV (2):[13] Amorphous solid, molecular formula $C_{53}H_{86}O_{22}$, HR-ESI-MS *m/z* 1097.5513 $[M+Na]^+$ (calcd. 1097.5503 for $C_{53}H_{86}O_{22}Na$). ^{1}H-NMR (pyridine-d_5, 500 MHz) and ^{13}C-NMR (pyridine-d_5, 125 MHz): see Table 1.

Glyceryl monostearate (3):[14] White crystals, molecular formula $C_{21}H_{42}O_4$, ESI-MS *m/z* 359.31 $[M+H]^+$, M = 358. ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H (ppm): 2.35 (2H, t, *J* = 7.5 Hz, H-2), 1.63 (2H, t, *J* = 7.5 Hz, H-3), 0.88 (3H, t, *J* = 7.0 Hz, H-18), 4.21 (1H, dd, *J* = 4.5, 11.5 Hz, H_a-1'), 4.15 (1H, dd, *J* = 6.0, 11.5 Hz, H_b-1'), 3.93 (1H, m, H-2'), 3.70 (1H, dd, *J* = 4.0, 11.5 Hz, H_a-3'), 3.60 (1H, dd, *J* = 6.0, 11.5 Hz, H_b-3'), 1.29 (28H, m, H-4 to H-17). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ_C (ppm): 174.4 (C-1), 34.2 (C-2), 24.9 (C-3), 29.1 to 29.7 (C-4 to C-14), 29.1 (C-15), 31.9 (C-16), 22.7 (C-17), 14.1 (C-18), 65.2 (C-1'), 70.3 (C-2'), 63.4 (C-3').

Stigmasterol (4):[15] White crystals, molecular formula $C_{29}H_{48}O$, ESI-MS *m/z* 413.69 $[M+H]^+$, M = 412. ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H (ppm): 5.34 (m, H-6), 5.16 (1H, dd, *J* = 8.5, 15.0 Hz, H-23), 5.04 (1H, dd, *J* = 9.0, 15.0 Hz, H-22), 3.51 (1H, m, H-3), 1.01 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-21), 1.00 (3H, s, H-19), 0.84 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-27), 0.80 (3H, t, *J* = 7.5 Hz, H-29), 0.79 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-26), 0.70 (3H, s, H-18). ^{13}C-NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ_C (ppm): 37.3 (C-1), 31.7 (C-2), 71.8 (C-3), 42.3 (C-4), 140.8 (C-5), 121.7 (C-6), 31.9 (C-7), 31.9 (C-8), 50.2 (C-9), 36.6 (C-10), 21.1 (C-11), 39.7 (C-12), 42.3 (C-13), 56.9 (C-14), 24.4 (C-15), 28.9 (C-16), 56.0 (C-17), 12.1 (C-18), 19.4 (C-19), 40.5 (C-20), 21.2 (C-21), 138.3 (C-22), 129.3 (C-23), 51.3 (C-24), 31.9 (C- 25), 19.0 (C-26), 21.1 (C-27), 25.4 (C-28), 12.6 (C-29).

Daucosterol (5):[16] White powder, molecular formula $C_{35}H_{60}O_6$, ESI-MS *m/z* 621.43 $[M-HCOO]^+$, M = 576. ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ_H (ppm): 3.43 (1H, m, H-3), 5.32 (1H, br s, H-6), 0.68 (3H, s, H-18), 0.96 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-21), 0.84 (3H, t, *J* = 7.6 Hz, H-26), 0.81 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-27), 0.83 (3H, d, *J* = 7.3 Hz, H-29), 4.22 (1H, d, *J* = 8.0, H-1'), 2.90 (1H, m, H-2'), 3.12 (1H, m, H-3'), 3.02 (1H, m, H-4'), 3.07 (1H, m, H-5'), 3.40 (1H, m, H_a-6'), 3.64 (1H, dd, *J* = 6.0, 10.0 Hz, H $_b$-6'). ^{13}C-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ_C (ppm): 36.9 (C-1), 29.3 (C-2), 77.0 (C-3), 38.3 (C-4), 140.5 (C-5), 121.2 (C-6), 31.4 (C-7), 31.5 (C-8), 49.6 (C-9), 36.2 (C-10), 20.6 (C-11), 38.3 (C-12), 41.9 (C-13), 56.2 (C-14), 23.9 (C-15), 27.8 (C-16), 55.5 (C-17), 11.7 (C-18), 19.0 (C-19), 35.5 (C-20), 18.6 (C-21), 33.4 (C-22), 25.5 (C-23), 45.2 (C-24), 28.8 (C-25), 19.7 (C-26), 22.6 (C-27), 19.1 (C-28), 11.7 (C-29), 100.8 (C-1'), 73.5 (C-2'), 76.8 (C-3'), 70.2 (C-4'), 76.8 (C-5'), 61.1 (C-6').

Thymine (6):[16] White crystals, molecular formula $C_5H_6N_2O_2$, ESI-MS *m/z* 127.05 $[M+H]^+$, M = 126. ^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*$_6$) δ_H (ppm): 10.96 (1H, br s, H-3), 10.55 (1H, br s, H-1), 7.23 (1H, d, *J* = 1.0 Hz, H-6), 1.72 (3H, d, *J* = 1.0 Hz, H-7). ^{13}C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*$_6$) δ_C (ppm): 151.5 (C-2), 164.9 (C-4), 107.7 (C-5), 137.7 (C-6), 11.8 (C-7).

Quercetin (7):[18] Yellow amorphous powder, molecular formula $C_{15}H_{10}O_7$, ESI-MS *m/z* 300.9 $[M-H]^-$, *m/z* 302.8 $[M+H]^+$, M = 302. ^{1}H-NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_H (ppm): 7.76 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.65 (1H, dd, *J* = 8.5, 2.0 Hz, H-6'), 6.91 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, Hz, H-5'), 6.41 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.21 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6). ^{13}C-NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_C (ppm): 148.0 (C-2), 137.2 (C-3), 177.4 (C-4), 162.5 (C-5), 99.3 (C-6), 165.6 (C-7), 94.4 (C-8), 158.3 (C-9), 104.5 (C-10), 124.2 (C-1'), 116.0 (C-2'), 146.2 (C-3'), 148.8 (C-4'), 116.3 (C-5'), 121.7 (C-6').

3. RESULTS AND DISCUSSION

Compound **1** was isolated as an amorphous solid. The ESI-MS spectrum of **1** revealed an ion peak $[M+H]^+$ at *m/z* 913.09, indicating a molecular mass of 912, which was consistent with the molecular formula $C_{47}H_{76}O_{17}$. The ^{1}H-NMR spectra of compound **1** showed singlet signals for seven methyl groups at δ_H 0.80 (s, H-25), 0.81 (s, H-30), 0.83 (s, H-29), 0.90 (s, H-24), 1.04 (s, H-26), 1.20 (s, H-27), and 1.21 (s, H-23), an olefinic proton at δ_H 5.43 (m, H-12), and three anomeric protons at δ_H 4.71 (1H, *J* = 7.5 Hz, H-1'), 5.24 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-1''), and 6.10 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-1'''). The ^{13}C-NMR and DEPT spectrum indicated the presence of carbonyl carbon at δ_C 177.00, seven quaternary carbons, nineteen methines, thirteen methylenes, and seven methyls. In which, there were thirty carbons of the triterpene skeleton and seventeen carbons of the sugar moieties. Additionally, the signal of two carbons at δ_C 122.2 (C-12) and 144.0 (C-13) showed the aglycone portion of **1** was olean-12-en. These signals suggested the presence of a triterpenoid and three sugar moieties. Furthermore, HMBC correlations observed from H-3 (δ_H 3.28) to C-1' (δ_C 106.7), C-24 (δ_C 16.7), C-23 (δ_C 27.9), indicating that the first sugar moiety was located at the C-3 (δ_C 88.5) position. Also, the HMBC correlation from H-1'' (δ_H 5.24) to C-3' (δ_C 83.30) and from H-1''' (δ_H 6.10) to C-28 (δ_C 177.0) allowed to confirm the second and the third sugar moiety was located at the C-3' and C-28, respectively. Based on the NMR spectral data and comparison with previously reported literature,[12] the structure of **1** was established as 3-*O*-[*β*-D-glucopyranosyl-(1→3)-*α*-L-arabinopyranosyl] oleanolic acid-28-*O*-*β*-D-glucopyranosyl ester.

Compound **2** was obtained as an amorphous solid. Its molecular formula, $C_{53}H_{86}O_{22}$, was determined by the HR-ESI-MS quasi-molecular ion peak at *m/z* 1097.5513 $[M+Na]^+$ corresponding to $C_{53}H_{86}O_{22}Na$. The ^{1}H-NMR spectrum of compound **2** displayed signals for seven methyl groups at δ_H 1.21 (s, H-23), 1.01 (s, H-24), 0.80 (s, H-25), 1.03 (s, H-26), 1.22 (s, H-27), 0.86 (s, H-29), 0.83 (s, H-30), along with an olefinic proton signal at δ_H 5.38 (m, H-12). Additionally, signal of anomeric protons of four sugar moieties are observed at δ_H 4.76 (d, *J* = 7.5 Hz, H-1', Glc I), δ_H 5.37 (d, *J* = 8.0 Hz, H-1'', Xyl), δ_H 5.22 (d, *J* = 8.0 Hz, H-1''', Glc II), and δ_H 6.22 (d, *J* = 8.0 Hz, Glc III, H-1''''), with the hydoxymethine of sugar groups appeared between δ_H 3.0 to 4.0 ppm. The ^{13}C-NMR spectrum of compound **2** reveals signals for a carbonyl group at δ_C 176.5, a pair of olefinic carbons at δ_C 122.7 (C-12) and 144.0 (C-13), the signal for the anomeric carbons of the sugar units at δ_C 105.2 (C-1', Glc I), 104.6 (C-1'', Xyl), 105.0 (C-1''', Glc II), and δ_C 95.6 (C-1'''', Glc III). These data suggest that compound **2** has an olean-12 en skeleton similar to compound **1**, and it has four sugar motieties attached. The HMBC of compound **2** confirmed the correlations between the anomeric proton at δ_H 4.76 (H-1', Glc I) and carbon C-3 (δ_C 89.3), confirming that the first sugar was attached at C-3 of olean skeleton. The proton at δ_H 5.37 (H-1'', Xyl) and carbon C-2' (δ_C 77.1, Glc I), confirmed that the second sugar was linked to the first via a 1→2 bond. The proton at δ_H 5.22

(H-1''', Glc II) and carbon C-3' (δ_C 84.8, Glc I), confirmed that the third sugar was attached to the first sugar via a 1→ 3 linkage. The proton at δ_H 6.22 (H-1'''', Glc III) correlated with C-28 (δ_C 176.5), confirmed the attachment of the fourth sugar with C-28. According to the spectroscopic data and comparison with the literature values,[13] compound **2** was identified as araliasaponin IV, as shown in Figure 1.

Compound **3** was isolated as white crystals. The ESI-MS spectrum of compound **3** displayed an ion peak at *m/z* 359.31 $[M+H]^+$, indicating a molecular mass of 358, consistent with the molecular formula $C_{21}H_{42}O_4$. The ^{1}H-NMR of compound **3** showed the signal of a methyl group at δ_H 0.88 (t, *J* = 7.0 Hz, H-18). In addition, the signals at δ_H 4.21 (dd, *J* = 4.5, 11.5 Hz, H_a-1'), 4.15 (1H, dd, *J* = 6.0, 11.5 Hz, H_b-1'), 3.93 (1H, m, H-2'), 3.70 (1H, dd, *J* = 4.0, 11.5 Hz, H_a-3'), and 3.60 (1H, dd, *J* = 6.0, 11.5 Hz, H_b-3'), which suggested a glyceryl group in the molecule. The ^{13}C-NMR and DEPT spectrum, combined with the HSQC spectral data, showed signals of one methyl group at δ_C 14.1 (C-18), one methine group at δ_C 70.3 (C-2'), eighteen methylene groups ranging from δ_C 22.7 to δ_C 65.2, and one quaternary carbon of ester group at δ_C 174.4 (C-1). Moreover, the HSQC spectrum also showed correlations between methylene carbon at δ_C 65.2 (C-1') and two protons at δ_H 4.21 (H_a-1') and 4.15 (H_b-1') , between another methylene carbon at δ_C 63.4 (C-3') and two protons at δ_H 3.70 (H_a-3') and 3.60 (H_b-3'), between methine carbon at δ_C 70.3 (C-2') and proton at δ_H 3.93 (H-2') indicated a glyceryl group. In the HMBC correlations of the glyceryl group from proton H-1' (δ_H 4.21 and δ_H 4.15) to C-2', C-3', and C-1, from proton H-3' (δ_H 3.70 and δ_H 3.60) to C-1' and C-2'. Based on the NMR data and comparison with those in the literature,[14] the structure of **3** was elucidated as glyceryl monostearate.

Compound **4** was isolated as white crystals. The molecular formula was established as $C_{29}H_{48}O$ by ESI-MS ion peak at *m/z* 413.69 $[M+H]^+$. The ^{1}H-NMR spectra of **4** showed signals for two singlets of methyl groups at δ_H 0.70 (3H, s, H-18) and δ_H 1.00 (3H, s, H-19), three doublets of methyl groups at δ_H 0.79 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-26), 0.84 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-27), 1.01 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-21), one triplet of a methyl group at δ_H 0.80 (3H, t, *J* = 7.5 Hz, H-29), three olefinic protons at δ_H 5.34 (1H, m, H-6), 5.04 (1H, dd, *J* = 9.0, 15.0 Hz, H-22), and 5.16 (1H, dd, *J* = 8.5, 15.0 Hz, H-23), one proton of hydroxygenated methine group at δ_H 3.51 (1H, m, H-3). The ^{13}C-NMR and DEPT spectra indicated that compound **4** had 29 carbons, including six methyl groups, nine methylene groups, eleven methine groups, and three quaternary carbons. Besides, the ^{13}C-NMR spectrum also indicated the presence of oxygenated methine at δ_C 71.8 (C-3), two double bonds at δ_C 140.8 (C-5), 121.7 (C-6), and δ_C 138.3 (C-22), 129.3 (C-23). From the above NMR spetra analysis and comparison of the data in the literature,[15] the structure of compound **4** was elucidated as stigmasterol.

Compound **5** was isolated as a white powder. The molecular formula was established as $C_{35}H_{60}O_6$ by ESI-MS quasi-molecular ion peak at *m/z* 621.43 $[M+HCOO]^+$. The ^{1}H-NMR spectrum of compound displayed signals of six methyl groups at δ_H 0.65 (s, H-18), δ_H 0.95 (s, H-19), δ_H 0.90 (d, *J* = 6.5 Hz, H-21), δ_H 0.83 (d, *J* = 7.0 Hz, H-27), δ_H 0.80 (d, *J* = 7.0 Hz, H-26), and δ_H 0.83 (t, *J* = 7.0 Hz, H-29). The characteristic signals for an olefinic proton appeared at δ_H 5.31 (1H, m, H-6). The anomeric proton of a glucose appeared at δ_H 4.22 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-1') and the signals of hydroxymethine groups of a glucose sugar between δ_H 2.87 and 3.65. The ^{13}C-NMR and DEPT spectra of compound **5** showed the signals of thirty-five carbons, including seven methine carbons, eleven methylene carbons, six methyl carbons, and two quaternary carbons. A double bond at δ_C 121.2 (C-5) and 140.5 (C-6), the carbons of the glucose unit at δ_C 100.8 (C-1'), 70.2 (C-2'), 73.5 (C-3'), 76.8 (C-4'), 77.0 (C-5'), and δ_C 61.1 (C-6'), and another hydroxymethine group at δ_C 76.8 (C-3). The HMBC spectrum the correlations between the anomeric proton at δ_H 4.22 (H-1') and C-3 (δ_C 77.0) confirmed the position of the sugar unit attached at C-3. Additionally, the interaction between the olefinic

proton at δ_H 5.33 (H-6) and carbons C-4 (δ_C 38.3), C-8 (δ_C 31.4), and C-10 (δ_C 36.2) indicated the presence of a double bond between C-5 and C-6. Based on these spectral data and comparison with published NMR data,[16] compound **5** was confirmed to be daucosterol.

Table 1. The NMR data of compounds **1-2**

C	1		2	
	δ_C[a,b]	δ_H[b,c] mult., (*J* in Hz)	δ_C[a,b]	δ_H[b,c] mult., (*J* in Hz)
1	38.7	1.45 m/0.88 m	38.6	1.37 m/0.78 m
2	25.8	2.02 m/1.79 m	26.5	2.12 m/1.75 m
3	88.5	3.28 m	89.3	3.20 dd (12.0, 4.0)
4	39.8		39.5	
5	55.6	0.71 m	55.8	0.69 d (12.0)
6	18.7	1.37 m/1.18 m	18.4	1.44 m/1.28 m
7	33.0	1.42 m/1.28 m	32.4	1.78 m/1.70 m
8	39.8		39.7	
9	47.7	1.50 m	47.9	1.56 m
10	37.0		36.7	
11	23.3	1.85 m	23.2	1.83 m
12	122.2	5.43 m	122.7	5.38 t (3.5)
13	144.0		144.0	
14	42.2		42.0	
15	28.2	2.31 m/1.18 m	28.1	2.22 m/1.13 m
16	23.3	1.85 m	23.5	2.04 m/1.92 m
17	48.2		46.9	
18	41.2	3.05 m	41.6	3.13 dd (13.5, 3.5)
19	45.7	1.69 m/1.18 m	46.1	1.70 m/1.20 m
20	30.3		30.6	
21	34.2	2.31 m	33.8	1.30 m/1.05 m
22	33.2	1.42 m/1.28 m	33.0	1.41 m/1.28 m
23	27.9	1.21 s	27.7	1.21 s
24	16.7	0.90 s	16.3	1.01 s
25	15.4	0.80 s	15.4	0.80 s
26	17.3	1.04 s	17.3	1.03 s
27	26.0	1.20 s	25.9	1.22 s
28	177.0		176.5	
29	32.6	0.83 s	33.0	0.86 s
30	23.5	0.81 s	23.6	0.83 s
1'	106.7	4.71 d (7.5)	105.2	4.76 d (7.5)
2'	71.0	4.02 m	77.1	4.64 m
3'	83.3	4.21 m	84.8	4.28 m
4'	68.6	4.48 m	69.3	4.78 m

C	1		2	
	δ_C[a,b]	δ_H[b,c] mult., (*J* in Hz)	δ_C[a,b]	δ_H[b,c] mult., (*J* in Hz)
5'	66.3	4.18 m/3.74 m	75.8	4.01 m
6'			61.9	4.30 m
1"	105.2	5.24 d (7.5)	104.6	5.37 d (8.0)
2"	75.0	3.97 m	75.0	3.95 m
3"	77.5	3.91 m	78.4	4.24 m
4"	71.3	4.48 m	71.1	4.14 m
5"	77.9	3.91 m	66.8	4.18 m/3.37 m
6"	61.8	4.37 m/4.23 m		
1"'	95.3	6.10 d (8.0)	105.0	5.22 d (8.0)
2"'	73.4	4.12 m	75.8	3.94 m
3"'	78.04	4.21 m	79.0	4.24 m
4"'	70.47	4.18 m	70.8	4.07 m
5"'	78.7	4.21 m	78.6	4.39 m
6"'	62.1	4.43 m/4.18 m	62.1	4.18 m/4.08 m
1""			95.6	6.22 d (8.0)
2""			73.8	4.14 m
3""			77.9	3.93 m
4""			71.3	4.08 m
5""			78.1	4.14 m
6""			62.2	4.40 m/4.16 m

Measured in [a]pyridine-d_5, [b]125 MHz, [c]500 MHz.

Compound **6** was isolated as white crystals. The ^{1}H-NMR spectra of compound **6**, a doublet at δ_H 7.23 (d, *J* = 1.0 Hz) assigned H-6 of pyrimidine. As a result of the deshielding effects of two adjacent carbonyls, H-3 and H-1 were expected to be the low field peak at δ_H 10.96 (1H, br s) and 10.55 (1H, br s). Furthermore, ^{1}H NMR spectra also showed a methyl group at δ_H 1.72 (d, *J* = 1.0 Hz, H-7). The ^{13}C-NMR combined with the HSQC spectral showed signals of five carbons, including three quaternary carbons at δ_C 164.9 (C-4), δ_C 151.5 (C-2), and δ_C 107.7 (C-5), one methine group at δ_C 137.7 (C-6), and one methyl group at δ_C 11.8 (C-7). The HMBC data also confirmed the correlations between H-6 (δ_H 7.23) with carbons C-5, C-7, C-4, and C-2, between H-7 (δ_H 1.72) and carbons C-4, C-5, and C-6. From above evidence and comparison of the spectral data in the literature,[17] the structure of **6** was identified as thymine.

Compound **7** was isolated as a yellow amorphous powder. The molecular formula was established as $C_{15}H_{10}O_7$ by ESI-MS ion peak at *m/z* 300.9 $[M-H]^-$ and *m/z* 302.8 $[M+H]^+$. The ^{1}H-NMR spectra showed an ABX system at δ_H 7.76 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.65 (1H, dd, *J* = 8.5, 2.0 Hz, H-6'), and 6.91 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5') of B ring and a *meta*-coupled pattern for H-6 (δ_H 6.21 d, *J* = 2.0 Hz) and H-8 (δ_H 6.41 d, *J* = 2.0 Hz). The ^{13}C-NMR spectra showed the presence of fifteen carbon signals in the flavonoid skeleton. Based on these spectral data and by comparison with the literature,[18] compound **7** was identified as quercetin. The chemical structure of compound **7** was shown in Figure 1.

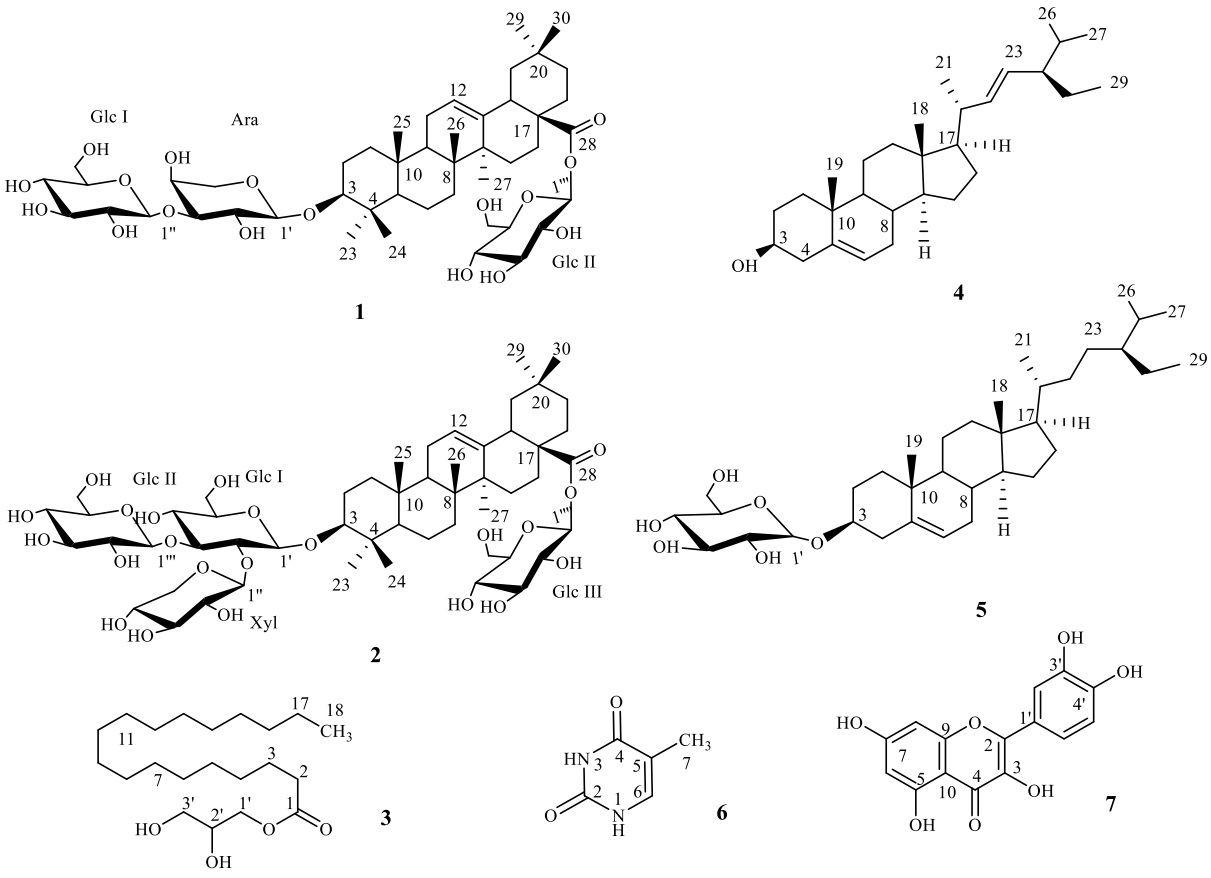


Figure 1. Structure of compounds **1-7**

4. CONCLUSION

In this study, seven compounds were successfully isolated from the methanol extract of the roots of *P. fruticosa*, collected from Lam Dong Province, Vietnam, using various chromatographic techniques. The identified compounds include 3-*O*-[*β*-D-glucopyranosyl-(1→3)-*α*-L-arabinopyranosyl] oleanolic acid-28-*O*-*β*-D-glucopyranosyl ester (**1**), araliasaponin IV (**2**), glyceryl monostearate (**3**), stigmasterol (**4**), daucosterol (**5**), thymine (**6**), and quercetin (**7**). The structures of these compounds were elucidated using 1D and 2D NMR spectroscopy, providing valuable insights into the chemical composition of *P. fruticosa*. All the compounds have been isolated from this plant for the first time.

Acknowledgements. This work was financially supported by the Vietnam national project of the Tay Nguyen 3 Program in the period 2016-2020 (code: TN18/C09).

REFERENCES

1. N. S. Ashmawy, H. A. Gad, M. L. Ashour, S. H. El-Ahmady, A. N. B. Singab. The genus *Polyscias* (Araliaceae): A phytochemical and biological review, *J. Herb. Med.*, **2020**, *23*, 100377.
2. A. M. Muhar, A. J. Velaro, A. T. Prananda, S. E. Nugraha, G. Çamlik, S. Wasnik, S. Z. Abidin, O. Sjofjan, M. A. Y. Harahap, M. F. Syahrian, N. A. Taslim, N. Mayulu, H. K. Permatasari, F. Nurkolis, P. C. Situmorang, R. A. Syahputra. *Polyscias scutellaria*: An emerging source of natural antioxidants and anti-inflammatory compounds for health, *Pharmacia*, **2023**, *70*(4), 1463-1470.
3. C. Winnie, I. Wagara, C. Josphat. Antibacterial saponins from the leaves of *Polyscias*

fulva (Araliaceae), *Afr. J. Biotechnol.*, **2019**, *18*, 390-398.

4. B. Selvaraj, T. T. Le, D. W. Kim. Neuroprotective Effects of Ethanol Extract of *Polyscias fruticosa* (EEPF) against Glutamate-Mediated Neuronal Toxicity in HT22 Cells, *Int. J. Mol. Sci.*, **2023**, *24*(4), 3969.
5. T. T. Yen. Improvement of learning ability in mice and rats with the root extract of dinh lang (*Policias fruticosum* L.), *Acta Physiol. Hung*, **1990**, *75*(1), 69-76.
6. D. T. Loi. Vietnamese medicinal plants and herbs, *Medical publisher*, 828-830, **2004**.
7. H. T. Ly, T. T. H. Nguyen, V. M. Le, B. T. Lam, T. T. T. Mai, T. P. T. Dang. Therapeutic Potential of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms Leaf Extract for Parkinson's Disease Treatment by Drosophila melanogaster Model, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2022**, *2022*(19), 5262677.
8. J. J. Brophy, E. V. Lassak, A. Suksamrarn. Constituents of the volatile leaf oils of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms, *Flavour Fragr. J.*, **1990**, *5*(3), 179-182.
9. J. Lutomski, C. L. Tran, T. H. Tran. Polyacetylenes in the Araliaceae family, *Herba Pol.*, **1992**, *38*(13-11).
10. M. V. Titova, D. V. Kochkin, E. S. Sukhanova, E. N. Gorshkova, T. M. Tyurina, I. M. Ivanov, M. K. Lunkova, E. V. Tsvetkova, A. Orlova, E. V. Popova, A. M. Nosov. Suspension Cell Culture of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms in Bubble-Type Bioreactors-Growth Characteristics, Triterpene Glycosides Accumulation and Biological Activity, *Plants*, **2023**, *12*(20), 3641.
11. A. Proliac, A. Chaboud, A. Rougny, N. Gopalsamy, J. Raynaud, P. Cabalion. A oleanolic saponin from *Polyscias fruticosa* Harms var. yellow leaves, *Pharmazie*, **1996**, *51*, 611-612.
12. K. H. Shaker, M. Bernhardt, M. H. A. Elgamal, K. Seifert. Triterpenoid saponins from *Fagonia indica*, *Phytochemistry*, **1999**, *51*(8), 1049-1053.
13. T. Miyase, K. I. Shiokawa, D. M. Zhang, A. Ueno. Araliasaponins I-XI, triterpene saponins from the roots of *Aralia decaisneana*, *Phytochemistry*, **1996**, *41*(5), 1411-1418.
14. C. E. Burgos, D. E. Ayer, R. A. Johnson. A new, asymmetric synthesis of lipids and phospholipids, *J. Org. Chem.*, **1987**, *52*(22), 4973-4977.
15. M. Nasir, S. Saeidnia, A. Mashinchian-Moradi, A. Gohari. Sterols from the red algae, *Gracilaria salicornia* and *Hypnea flagelliformis*, from Persian Gulf, *Pharmacogn. Mag.*, **2011**, *7*, 97.
16. A. Manayi, S. Saeidnia, S. N. Ostad, A. Hadjiakhoondi, M. R. Ardekani, M. Vazirian, Y. Akhtar, M. Khanavi. Chemical constituents and cytotoxic effect of the main compounds of *Lythrum salicaria* L, *Z. Naturforsch. C. J. Biosci.*, **2013**, *68*(9-10), 367-375.
17. P. Ferriol, F. J. Marante, F. León, I. Brouard, R. Guedes-Alonso, J. J. Santana Rodriguez. Chemical constituents derived from the canaries marine *Sponge Myxilla* sp, *Química Nova*, **2018**, *41*, 292-296.
18. Y. L. Li, J. Li, N. L. Wang, X. S. Yao. Flavonoids and a new polyacetylene from *Bidens parviflora* Willd, *Molecules*, **2008**, *13*(8), 1931-1941.

Corresponding author: **Nguyen Huu Toan Phan**
Tay Nguyen Institute of Scientific Research
Vietnam Academy of Science and Technology
116, Xo Viet Nghe Tinh, Da Lat, Lam Dong, Vietnam
Email: phannht@tni.ac.vn.

ASSESSMENT OF ANTIOXIDANT POTENTIAL AND COMPREHENSIVE CHEMICAL ANALYSIS OF *Terminalia chebula* EXTRACTS USING LC-MS/MS AND GNPS

Ha My Nhan[2], Kieu Dang Minh Nhut[5], Pham Thi Nhat Trinh[1*], Do Chiem Tai[2], Tong Thanh Danh[3], Dang Thi Le Hang[4,5], Le Tien Dung[4,5*]

[1]Department of Natural Science, Tien Giang University, 119, Ap Bac, My Tho, Tien Giang, Vietnam

[2]Hong Bang International University, 215, Dien Bien Phu, Hong Bang, Ho Chi Minh, Vietnam

[3]Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemical Engineering, Ho Chi Minh City University of Technology, 268, Ly Thuong Kiet, District 10, Ho Chi Minh City, Vietnam

[4]Graduate University of Science and Technology (VAST), 18, Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

[5]Institute of Applied Materials Science, VAST, 1B, TL29, Thanh Loc ward, Distric 12, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 10 Feb 2025; Revised 20 Feb 2025; Accepted 1 Mar 2025

Abstract

This study investigates the antioxidant potential and phytochemical composition of *Terminalia chebula* extracts using advanced techniques such as LC-MS/MS and GNPS molecular networking. *T. chebula*, renowned for its pharmacological properties, was evaluated through various assays to determine total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), ABTS radical scavenging activity, hydrogen peroxide neutralization, and ferric reducing power. The ethyl acetate fraction (TCEA) displayed the highest TPC (882.47±8.55 mg GAE/g) and TFC (194.33±0.95 mg QE/g), alongside the strongest ABTS radical scavenging and ferric reducing activity, indicating its robust antioxidant potential. The methanol fraction (TCM) excelled in hydrogen peroxide scavenging, comparable to the standard gallic acid. Furthermore, LC-MS/MS combined with GNPS enabled the identification of diverse bioactive compounds, including phenolic acids, flavonoids, and triterpenoids. These findings underline the significance of *T. chebula* as a promising source of natural antioxidants and its potential applications in functional foods, nutraceuticals, and cosmetics.

Keywords: *Terminalia chebula*, antioxidant activity, phenolic content, flavonoid content, LC-MS/MS analysis, GNPS molecular networking.

1. INTRODUCTION

The Combretaceae family includes *T. chebula*, a medicinal plant widely used in Ayurveda, Unani, and traditional Chinese medicine. Known as the “King of Medicine” in Ayurveda, *T. chebula* fruit possesses antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, and cytoprotective properties, attributed to its rich phytochemical profile of tannins, flavonoids, and phenolic acids.[1-3] Given the role of oxidative stress and inflammation in chronic diseases like cancer and diabetes, *T. chebula's* bioactive compounds have gained scientific interest.[4] Oxidative stress results from an imbalance between reactive oxygen species (ROS) and antioxidant defenses, leading to cellular damage.[5,6] *T. chebula* extracts effectively neutralize free radicals, enhance antioxidant enzyme activity, and protect cells from oxidative damage, primarily due to tannins and phenolic acids.[1,2,7,8] However, the exact chemical mechanisms

remain unclear, necessitating advanced analytical approaches for comprehensive profiling. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) is a crucial tool for analyzing complex natural extracts, providing high-resolution identification of small molecules.[9-11] Combined with Global Natural Products Social Molecular Networking (GNPS), it enables molecular visualization, spectral matching, and efficient dereplication, fostering collaborative research through data sharing.[12,13]

This study investigates *T. chebula* fruit extracts for their antioxidant, antimicrobial, and cytoprotective properties, essential in managing oxidative stress-related conditions. Using LC-MS/MS and GNPS, key bioactive compounds are identified, potentially contributing to therapeutic developments in functional foods, nutraceuticals, and cosmetics. By integrating traditional knowledge with modern analytical techniques, this research underscores *T. chebula's* significance in healthcare and industry.

2. MATERIAL AND METHOD

2.1. Preparing the extract *T. chebula*

In this study, *T. chebula* fruits were collected from Lam Dong province, Vietnam. Following harvesting, the fruits were washed with tap water, dried, and ground into a fine powder. A total of 500 g of the powdered fruit material was subjected to extraction with ethanol in a 1:10 ratio (5 L × 3). The resulting extract was filtered, and the solvent was evaporated under reduced pressure to yield a semi-solid crude ethanol extract (TCE, 209.14±6.34 g).

The crude ethanol extract (250 g) was further fractionated through maceration using solvents of increasing polarity, namely hexane, ethyl acetate, and methanol, at a sample-to-solvent ratio of 1:5 (1.25 L × 3). Each fraction was filtered, and the solvents were evaporated to obtain three sub-fractions: the *n*-hexane fraction (TCH, 0.21 g), the ethyl acetate fraction (TCEA, 79.08 g), and the methanol fraction (TCM, 108.25 g). Given the limited yield and low quality of the *n*-hexane fraction, only the crude ethanol extract, along with the ethyl acetate and methanol sub-fractions, were selected for further investigation.

2.2. Determination of polyphenol and flavonoid content

Total polyphenol content (TPC) was measured using Akkol et al.'s method,[14] with modifications. A 200 µL sample was mixed with 3 mL distilled water, 600 µL of 20% Folin-Ciocalteu reagent, and incubated in the dark for 15 minutes. After adding 600 µL of 10% Na_2CO_3, the mixture reacted for 15 minutes before absorbance was recorded at 760 nm.

Total flavonoid content (TFC) followed a modified method.[15] A 1 mL sample was mixed with 500 µL of 5% $NaNO_2$, left for 5 minutes, then combined with 500 µL of 10% $AlCl_3$ and incubated for 10 minutes. After adding 2 mL of 1M NaOH, the mixture stabilized for 10 minutes before absorbance was measured at 510 nm. TPC and TFC were calculated using the formula:

$$P = a\frac{V}{m}; \text{and } F = a\frac{V}{m}$$

where:

P: total polyphenol content (mg GAE/g extract);

F: total flavonoid content (mg QE/g extract);

a: concentration of the gallic acid standard (mg/mL);

V: volume of the sample (mL);

m: mass of the sample (g).

Both assays were conducted in triplicate, and the results were expressed as the mean ± standard deviation. These standardized methodologies provided robust and reproducible measurements of the polyphenol and flavonoid contents in the extracts.

2.3. $ABTS^{\bullet+}$ radical scavenging assay

$ABTS^{\bullet+}$ radical scavenging activity was measured using Kim et al.'s method,[16] with modifications. $ABTS^{\bullet+}$ reagent was prepared by mixing 7 mM ABTS with 2.45 mM $K_2S_2O_8$ and incubating in the dark for 12-16 hours. It was then diluted with methanol to an absorbance of 0.7±0.02 at 700 nm. A 10 µL sample solution was mixed with 1 mL of $ABTS^{\bullet+}$ reagent and incubated in the dark for 6 minutes. Absorbance was recorded at 734 nm. The % inhibition was calculated using the following formula:

$$\%I = \frac{OD\ blank - OD\ sample}{OD\ blank}$$

where:

%I: percentage of $ABTS^{\bullet+}$ radical inhibition;

OD_{blank}: absorbance of the $ABTS^{\bullet+}$ solution without the sample;

OD_{sample}: absorbance of the $ABTS^{\bullet+}$ solution with the sample.

2.4. Hydrogen peroxide (H_2O_2) scavenging assay

Hydrogen peroxide (H_2O_2) scavenging activity was measured using Mukhopadhyay et al.'s method,[17] with modifications. A 1 mL extract was mixed with 0.25 mL of 0.05% H_2O_2 and incubated for 10 minutes. Then, 0.25 mL of 1 mM ammonium ferrous sulfate and 3 mL of 1 mM 1,10-phenanthroline were added, followed by another 10-minute incubation. For the blank, distilled water replaced the extract. Absorbance was recorded at 510 nm using a UV-Vis spectrophotometer. The H_2O_2 scavenging percentage was calculated using the following formula:

$$I(\%) = \frac{OD\ sample}{OD\ blank}$$

where:

I(%): percentage of H_2O_2 scavenging;

OD_{sample}: absorbance of the reaction mixture containing the sample;

OD_{blank}: absorbance of the reaction mixture without the sample.

2.5. Reducing power assay of extracts

Ferric-reducing capacity was evaluated using Nwidu et al.'s method[18], with modifications. Samples were dissolved in DMSO, and 1 mL of each was mixed with 2.5 mL of 0.2 M phosphate buffer (pH 6.6) and 2.5 mL of 1% potassium ferricyanide. The mixture was incubated at 50 °C for 20 minutes. To stop the reaction, 2.5 mL of 10% trichloroacetic acid, 2.5 mL of distilled water, and 0.5 mL of 0.1% ferric chloride were added. Absorbance was recorded at 700 nm using a UV-Vis spectrophotometer. The ferric-reducing ability was assessed based on $OD_{0.5}$ values, representing the concentration needed for an optical density of 0.5.

2.6. Identification of Chemical Constituents Using LC-MS/MS Combined with GNPS Networking

Initially, LC-MS/MS was employed to collect MS/MS spectral data from TCE, TCEA, and TCM samples, providing molecular weight and fragmentation patterns. The raw data

were converted into "mzML" format using MSConvert, ensuring compatibility with bioinformatics platforms. The mzML files were uploaded to the GNPS database via WinSCP, where molecular networks were constructed. GNPS algorithms compared mass spectra, clustering similar compounds into networks, enabling classification, identification, and comparative analysis of natural products.[13,16]

2.7. Data analysis

Data from independent experiments are expressed as mean ± standard deviation (SD). Statistical analyses were conducted using Student's *t*-test for multiple comparisons, complemented by analysis of variance (ANOVA) at a significance threshold of $p < 0.001$. Differences with $p < 0.001$ were considered statistically significant.

3. RESULT AND DISCUSSION

3.1. The result of TPC, TFC contents

The findings regarding total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) are depicted in Figure 1. Polyphenol compounds represent a significant class of bioactive substances widely distributed in plants, renowned for their multifaceted health benefits, largely attributed to their potent antioxidant properties.[22] These antioxidant effects are primarily mediated by the neutralization of free radicals via hydroxyl (OH) groups, a mechanism extensively documented in the literature.[23] Notably, the antioxidant efficacy of polyphenols demonstrates a positive correlation with their concentration, with higher levels resulting in enhanced activity.[17] In this study, the quantification of polyphenols and flavonoids in the extracts was achieved using gallic acid equivalents (GAE) and quercetin equivalents (QE), respectively. The calibration curves for these measurements were expressed through the equations $y = 0.0029x + 0.0165$ ($R^2 = 0.998$) for TPC (Figure 1A) and $y = 0.002x - 0.0926$ ($R^2 = 0.991$) for TFC (Figure 1B). As illustrated in Figure 1C, the polyphenol content in the ethanol-extracted and ethyl acetate-fractionated samples of

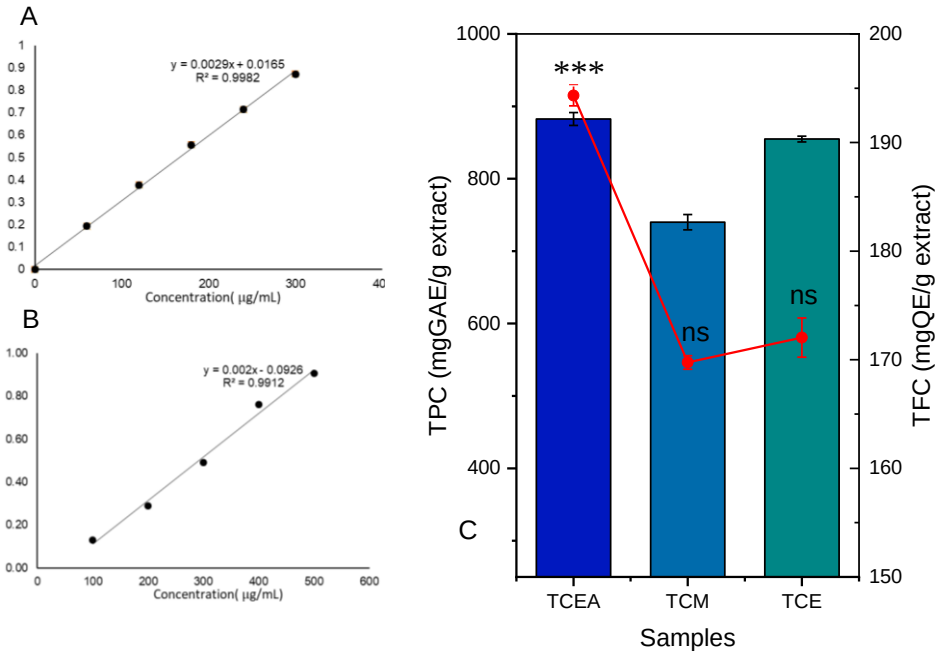


Figure 1. TPC, TFC contents of *T. chebula* extract TCEA: *T. chebula* ethyl acetate fraction, TCM: *T. chebula* methanol fraction, TCE: *T. chebula* ethanol fraction, ***: $p < 0.001$, *ns:* no significant difference with Tukey's test

T. chebula was notably high, ranging between 739.94 and 854.89 mg GAE/g extract. Among the samples, TCEA exhibited the highest TPC, recorded at 882.47±8.55 mg GAE/g extract, a value that was statistically significant compared to the TCM and TCE samples, which yielded 739.94±10.53 and 854.89±3.98 mg GAE/g extract, respectively. Similarly, the TFC of the extracts ranged from 169.75 to 194.33 mg QE/g extract. The TCEA sample again demonstrated superiority, with a TFC of 194.33±0.95 mg QE/g extract, significantly higher than the TCE (169.75±0.63 mg QE/g extract) and TCM (172.04±1.80 mg QE/g extract) samples.

Notably, the difference in TFC content between the TCE and TCM samples was not statistically significant. These results are consistent with previous studies that highlight the influence of solvent polarity on the extraction efficiency of phenolic and flavonoid compounds, as well as their antioxidant capacity.[24] Furthermore, the observed variations can also be attributed to extrinsic factors such as geographical location, climatic conditions, and intrinsic genetic diversity among plant species. Specifically, interspecies differences are known to play a critical role in determining the biosynthesis and accumulation of secondary metabolites, further elucidating the observed disparities in phenolic and flavonoid content.[24,25]

3.2. The ABTS radical inhibition

The antioxidant capacity of the extracts was assessed through the $ABTS^{\bullet+}$ cation radical reduction assay, which measures the ability of antioxidants in the extracts to neutralize free radicals.[26] The results of the ABTS radical scavenging activity of *T. chebula* extracts are depicted in Figure 2A.

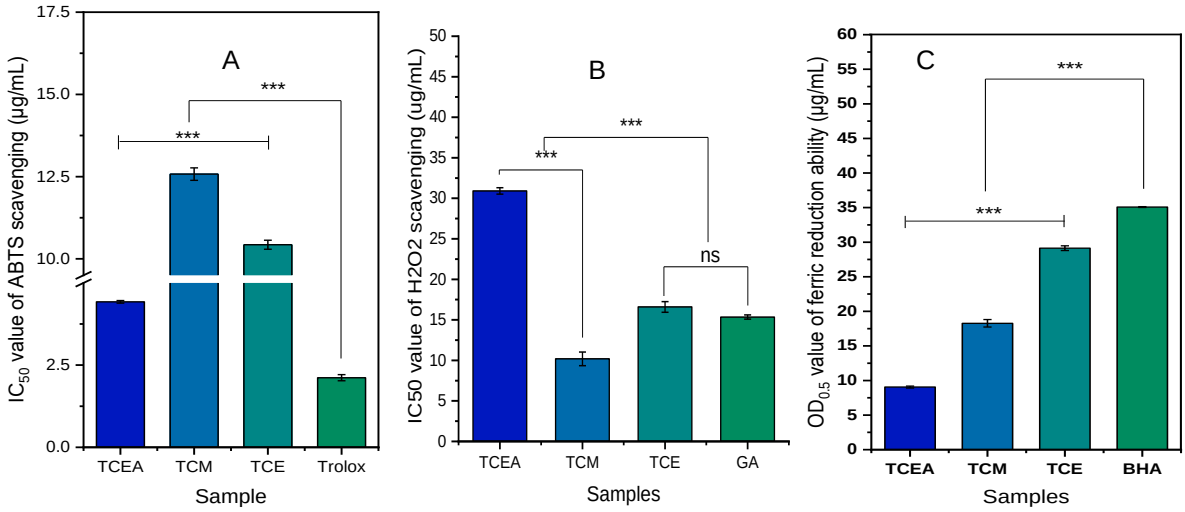


Figure 2. ABTS radical (A) and H_2O_2 (B) neutralizing activities and reducing power (C) of the extract. TCEA: *T. chebula* ethyl acetate fraction, TCM: *T. chebula* methanol fraction, TCE: *T. chebula* ethanol fraction, ***: $p < 0.001$ with Tukey's test. GA: Gallic acid, BHA: Beta hydroxy acid

The IC_{50} values of the test samples were determined in comparison with the positive control, Trolox. The IC_{50} values of the samples ranged from 2.12 to 12.58 µg/mL, indicating a broad spectrum of radical scavenging capacities. Among the tested extracts, the TCEA sample exhibited the highest ABTS radical scavenging activity, with an IC_{50} value of 4.42±0.04 µg/m, followed by the TCE sample, which recorded an IC50 value of 10.43±0.14 µg/mL. The TCM sample demonstrated the weakest activity, with an IC_{50} value of 12.58±0.19 µg/mL. In comparison, the positive control, Trolox, exhibited a significantly lower IC_{50} value of 2.12±0.09 µg/mL, highlighting its superior radical scavenging efficiency. Statistical analysis revealed a significant difference ($p < 0.001$) between the scavenging

performance of Trolox and the extract samples. Further analysis indicated that the scavenging efficiency of TCEA was approximately 47.85% of Trolox's performance, whereas the TCE and TCM samples achieved only 20.29% and 16.83%, respectively, relative to the positive control. These findings underscore the potent antioxidant activity of Trolox while demonstrating a moderate, yet significant, capacity of *T. chebula* extracts, with TCEA being the most effective among the tested samples.

3.3. The H_2O_2 scavenging assay

Hydrogen peroxide is a mild oxidizing agent capable of directly deactivating specific enzymes by oxidizing essential thiol groups. Among the various reactive oxygen species (ROS), H_2O_2 is particularly noteworthy due to its ability to freely diffuse across cellular membranes, enabling it to interact with intracellular Fe^{2+} and Cu^{2+} ions. These interactions generate highly reactive hydroxyl radicals through Fenton-like reactions.[17,27] Given the potential cytotoxicity of these radicals, the efficient removal of H_2O_2 is critical for maintaining cellular homeostasis. In this study, the H_2O_2 scavenging activity of *T. chebula* extracts was evaluated using gallic acid as the positive control, with the IC_{50} value serving as the benchmark for activity assessment. The results are presented in Figure 2B. The IC_{50} values of the tested extracts were 16.60±0.66 μg/mL for the crude ethanol extract (TCE), 30.91±0.40 μg/mL for the ethyl acetate fraction (TCEA), and 10.19±0.84 μg/mL for the methanol fraction (TCM). These findings indicate that the TCM fraction exhibited the most potent H_2O_2 scavenging activity ($p < 0.001$), followed by the crude ethanol extract, while the ethyl acetate fraction demonstrated the lowest activity. Notably, the H_2O_2 scavenging capacity of the ethanol extract (TCE) was comparable to that of the positive control, gallic acid. The IC_{50} value of gallic acid was determined to be 15.34±0.26 μg/mL, showing no statistically significant difference from the TCE extract. These results highlight the effective antioxidant properties of *T. chebula* extracts, particularly the TCM fraction, in neutralizing H_2O_2, a critical ROS molecule implicated in oxidative stress.

3.4. Reducing power

The bioactive compounds in the extract have the ability to reduce by donating electrons in the process of converting Fe^{3+} to Fe^{2+}. The resulting Fe^{2+} ions then react with ferric chloride ($FeCl_3$) to form a complex with a characteristic blue color.[28] The higher the electron-donating capacity, the greater the intensity of the color, indicating that the reducing ability is directly proportional to the absorption intensity. The antioxidant capacity of *T. chebula* extracts is demonstrated through their ability to reduce iron (Figure 2C), with the reduction efficiency assessed by the $OD_{0.5}$ value. Results from Figure 3 indicate that all extracts of *T. chebula* exhibit strong iron-reducing activity, with $OD_{0.5}$ values ranging from 9.06 to 35.07 μg/mL. When comparing the extracts, the TCEA sample showed the strongest iron-reducing ability, with an $OD_{0.5}$ value of 9.06±0.14 μg/mL, followed by TCM and TCE extracts, which had $OD_{0.5}$ values of 18.27±0.54 μg/mL and 29.13±0.34 μg/mL, respectively, with significant differences observed between the extracts($p < 0.001$). Notably, when using BHA as a positive control, the $OD_{0.5}$ value was 35.07±0.06 μg/mL, showing a clear distinction from the extract samples. Based on the $OD_{0.5}$ values, the iron-reducing efficiency of the *T. chebula* extracts surpasses that of BHA.

3.5. Chemical component analysis of *T. chebula* extract on GNPS

Figure 3A illustrates the signal intensity peaks of the samples at different time points, with retention times ranging from 0 to 22 minutes. The signal peaks of the three samples (TCEA corresponding to the red peaks, TCM to the green peaks, and TCE to the blue peaks) tend to overlap, suggesting a significant similarity in the compound composition among the samples. It can be observed from Figure 3A that the TCEA sample exhibits higher signal

intensity compared to the other samples, indicating that the compound content in TCEA is the highest.

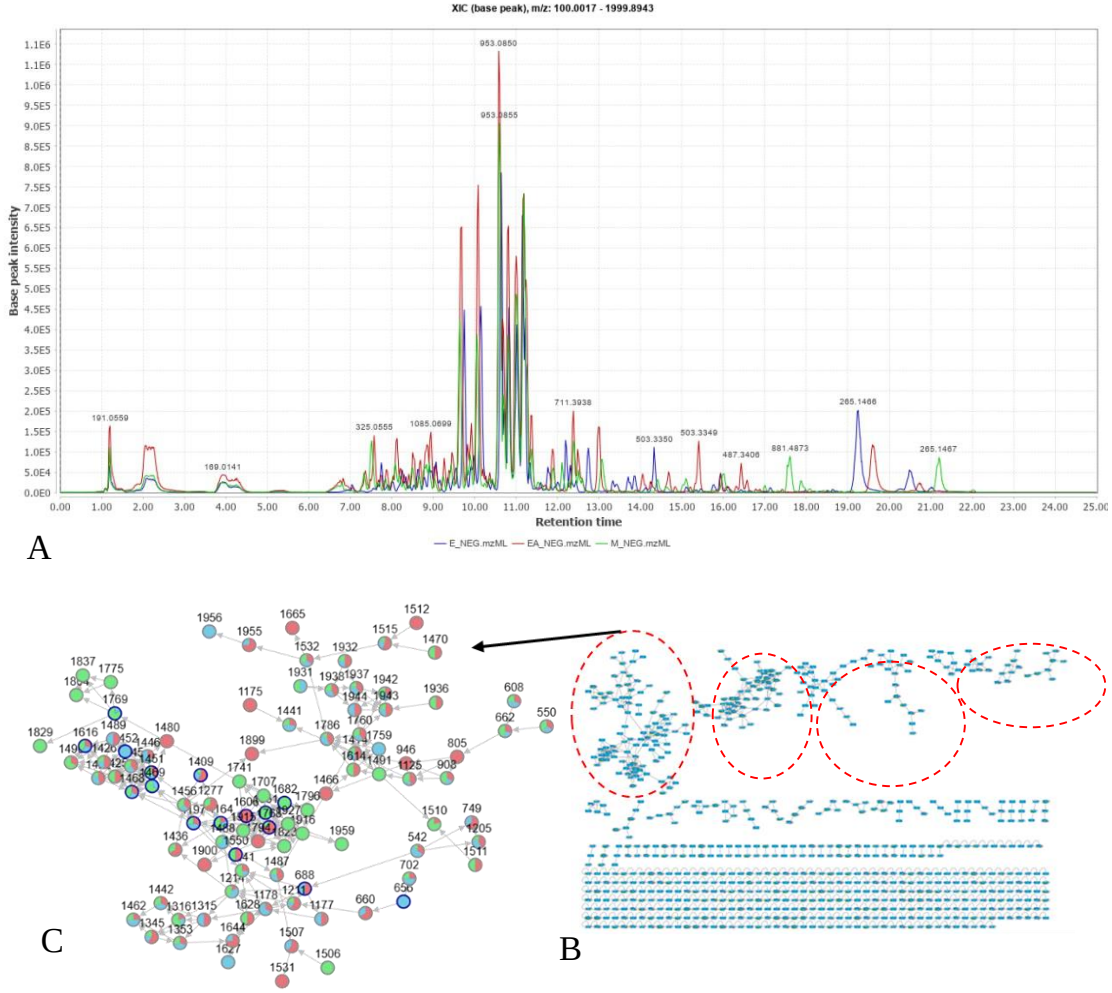


Figure 3. (A) Chromatograms of the crude ethanol extract (TCE, blue line), the ethyl acetate fraction (TCEA, red line), and the methanol fraction (TCM, green line). (B) Molecular network of the extracted samples (TCEA, TCM, TCE). (C) A part of the molecular network, where the red, green, and blue nodes represent the TCEA, TCM, and TCE samples

Figure 3B represents the molecular network of the three samples: TCEA, TCM, and TCE. Each node in the network corresponds to a mass spectrometry (MS) fragment, and the connections between nodes are established when their cosine similarity coefficient exceeds 0.6 and their fragment mass deviation is minimal. Within the nodes, the red region represents the TCEA sample, the green region represents the TCM sample, and the blue region represents the TCE sample. Figure 3B also reveals that the molecular network of the samples is divided into four major clusters and several smaller clusters, with the MS fragments of the experimental samples distributed across these clusters. Compounds matched with the GNPS library are marked with a blue ring surrounding their respective nodes (Figure 3C). The compounds identified using the HPLC/MS/MS technique combined with GNPS are presented in Table 1.

Table 1. Identified Compounds from *Terminalia chebula*

No.	LibraryID	RT (s)	Cluster Idx	Cosine	Experimet (m/z)	Lib (m/z)	Class	Default groups
1	Shikimic acid	80.28	62	0.94	173.04	173.04	Phenolic acids	G1,G2,G3
2	Decylbenzenesulfonic acid	1171.87	431	0.9	297.15	297.15	Aromatic polyketides	G1,G2,G3
3	Docosanol	1121.52	511	0.9	325.35	325.35	Fatty acyls	G1,G2
4	Trehalose	71.86	580	0.76	341.11	341.11	Saccharides	G1,G2,G3
5	Melibiose	70.48	685	0.85	377.75	377.09	Saccharides	G1,G2,G3
6	quinic acid	72.91	764	0.88	405.10	405.10	Phenolic acids	G1,G2,G3
7	Apigenin-8-C-glucoside	674.34	807	0.84	431.07	431.07	Flavonoids	G3
8	Phloridzin	577.08	821	0.72	435.07	435.07	Flavonoids	G1,G2,G3
9	quercitrin	652.59	843	0.97	447.10	447.09	Flavonoids	G1,G2,G3
10	1-Palmitoyl-2-hydroxy-sn-glycero-3-phosphoethanolamine	1150.71	862	0.88	452.28	452.28	Glycerophospholipids	G1,G2,G3
11	[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-[[(E)-3-phenylprop-2-enoyl]oxymethyl]oxan-2-yl] 3,4,5-trihydroxybenzoate	769.06	880	0.95	461.11	461.11	Phenylpropanoids	G1,G2,G3
12	1-(9Z-Octadecenoyl)-sn-glycero-3-phosphoethanolamine	1132.80	954	0.93	478.29	478.29	Lipids	G1,G2
13	[3,4,5-trihydroxy-6-(3,4,5-trihydroxybenzoyl)oxyoxan-2-yl]methyl 3,4,5-trihydroxybenzoate	546.509	972	0.77	483.08	483.08	Phenolic acids	G1,G2,G3
14	(1S,4aR,6aS,6bR,9R,10R,11R,12aR,14bS)-1,10,11-trihydroxy-9-(hydroxymethyl)-2,2,6a,6b,9,12a-hexamethyl 1,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahydropicene-4a-carboxylic acid	828.73	1067	0.85	503.33	503.34	Triterpenoids	G1,G2,G3

No.	LibraryID	RT (s)	Cluster Idx	Cosine	Experimet (m/z)	Lib (m/z)	Class	Default groups
15	Olean-12-en-28-oic acid, 2,3,19,23-tetrahydroxy-, (2 α,3β,5xi,9ξ,19 α)-	1035.62	1164	0.91	533.35	533.35	Triterpenoids	G1,G2,G3
16	[(2S,3R,4R,5R,6S)-2-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-4-oxochromen-3-yl]oxy-4,5-dihydroxy-6-methyloxan-3-yl] 3,4,5-trihydroxybenzoate	721.21	1273	0.89	599.10	599.10	Flavonoids	G1,G2,G3
17	Quercetin	672.35	1282	0.83	603.08	603.08	Flavonoids	G1,G2,G3
18	Rutin	639.52	1295	0.87	609.14	609.15	Flavonoids	G1,G2,G3
19	Hesperidin	704.88	1296	0.92	609.18	609.18	Flavonoids	G1
20	Ellagic acid	661.25	1318	0.95	624.99	624.99	Phenolic acids	G1,G2,G3
21	(1R,21S,23R)-6,7,8,11,12,13,22,23-octahydroxy-3,16-dioxo-2,17,20-trioxatetracyclo[17.3.1.0?,?.0??,??]tricosa-4(9),5,7,10(15),11,13-hexaen-21-yl 3,4,5-trihydroxybenzoate	512.04	1321	0.9	633.07	633.07	Phenolic acids	G1,G2,G3
22	1,3,6-tri-O-galloylglucose	603.03	1337	0.9	635.09	635.09	Saccharide	G1,G2,G3
23	[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl] (1S,4aR,6aS,6bR,9R,10R,11R,12aR)-1,10,11-trihydroxy-9-(hydroxymethyl)-2,2,6a,6b,9,12a-hexamethyl-1,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahydropicene-4a-carboxylate	749.65	1409	0.8	665.39	665.39	Triterpenoids	G1,G2,G3
24	1-O-[(2alpha,3 β,5 ξ,9 ξ,18 ξ)-2,3,23-Trihydroxy-28-oxoolean-12-en-28-yl]-beta-D-glucopyranose	885.89	1451	0.92	695.41	695.40	Triterpenoids	G1,G2,G3
25	1-O-[(2 α,3 β,5 ξ,6 β,9 ξ,18 ξ)-2,3,6,23-	791.63	1468	0.91	711.40	711.40	Triterpenoids	G1,G2,G3

No.	LibraryID	RT (s)	Cluster Idx	Cosine	Experimet (m/z)	Lib (m/z)	Class	Default groups
	Tetrahydroxy-28-oxoolean-12-en-28-yl]-beta-D-glucopyranose							
	1,2,3,6-tetragalloylglucose	659.87	1544	0.86	787.11	787.11	Phenolic ester	G1,G2,G3
26	α-Hederin	956.51	1550	0.85	795.45	795.45	Triterpenoids	G1,G3
27	1-O-[(2 β,3 β,5 ξ,,9 ξ,18 ξ)-2,23-Dihydroxy-28,29-dioxo-3-(beta-D-xylopyranosyloxy)olean-12-en-28-yl]-beta-D-glucopyranose	971.25	1616	0.84	841.42	841.42	Triterpenoids	G1,G2,G3
27	[(2S,3R,4S,5R,6R)-5-hydroxy-2,4-bis[(3,4,5-trihydroxybenzoyl)oxy]-6-[(3,4,5-trihydroxybenzoyl)oxymethyl]oxan-3-yl] 3,4,5-trihydroxy-2-(2-methoxy-2-oxoethyl)benzoate	667.17	1624	0.73	859.12	859.12	Phenolic acids	G2,G3
29	Quercitrin	650.56	1646	0.89	895.19	895.19	Flavonoids	G1
30	Olean-12-en-28-oic acid, 23-hydroxy-3-[[O-β-D-xylopyranosyl-(1->3)-O-6-deoxy-alpha-L-mannopyranosyl-(1->2)-alpha-L-arabinopyranosyl]oxy]-, (3 β,5 ξ,9 ξ)-	1057.01	1682	0.81	927.49	927.49	Triterpenoids	G3
31	beta-penta-O-galloyl-glucose	677.71	1694	0.74	939.11	939.11	Phenolic ester	G1,G2,G3

G1: TCEA; G2: TCE; G3: TCM.

T. chebula, commonly known as Myrobalan or Chebulic Myrobalan, belongs to the Combretaceae family and is widely distributed across tropical regions of Asia, including Vietnam, India, and China (Patel et al., 2019). The phytochemical composition of *T. chebula* is highly diverse, with tannins accounting for 20% to 40% of the fruit's dry weight. These tannins include chebulinic acid, chebulagic acid, gallic acid, and ellagic acid, which play a significant role in the biological activities of the plant.[19,20] In addition, the fruit contains flavonoids such as quercetin, catechin, and kaempferol, along with organic acids like quinic acid and shikimic acid.[20] The present study identified several compounds from *T. chebula*, including phenolic acids (e.g., shikimic acid, quinic acid), flavonoids (e.g., quercetin, rutin), triterpenoids (e.g., α-hederin, olean-12-en-28-oic acid), and saccharides (e.g., trehalose, melibiose). These compounds were identified using advanced techniques, specifically HPLC/MS/MS coupled with GNPS (Global Natural Products Social Molecular Networking). This methodological combination proved highly effective in analyzing the complex chemical composition of a plant species, facilitating the precise identification and annotation of secondary metabolites.[12,13,16] These findings align with previous reports, confirming the plant's diversity in secondary metabolites. Notably, compounds such as α-hederin and β-penta-O-galloyl-glucose were rarely reported in earlier studies of *T. chebula*, suggesting that this research has uncovered additional or less explored phytochemicals. This opens avenues for further investigations into the biological potential and pharmaceutical applications of these compounds.

The distribution of these compounds across different extraction fractions provides insights into their polarity-based solubility. G1 (ethyl acetate fraction), representing a medium-polarity solvent, predominantly contained phenolic acids (e.g., shikimic acid, quinic acid) and non-glycosylated flavonoids (e.g., apigenin-8-C-glucoside). This suggests that compounds with moderate polarity are selectively extracted in this fraction. In contrast, G2 (crude ethanol extract), due to its wide polarity range, included a broader spectrum of compounds such as phenolic acids (e.g., ellagic acid), glycosylated flavonoids (e.g., rutin, quercitrin), and triterpenoids (α-hederin). Ethanol's ability to dissolve both hydrophilic and hydrophobic compounds highlights its utility in capturing diverse phytochemicals.[19] Lastly, G3 (methanol fraction)**,** as a highly polar solvent, was rich in highly hydrophilic compounds such as saccharides (e.g., trehalose, melibiose) and hydrolyzable tannins (e.g., β-penta-O-galloyl-glucose). These observations confirm the solvent-specific extraction patterns and the potential for optimizing solvent selection to target specific compound groups.[20] In conclusion, the present findings not only corroborate the known chemical composition of *T. chebula*, but also add new insights into its phytochemistry, enriching the scientific understanding of this medicinally valuable plant. Furthermore, the application of HPLC/MS/MS combined with GNPS highlights the efficiency and accuracy of these techniques in the comprehensive analysis of plant metabolites, establishing a robust approach for future phytochemical investigations.

4. CONCLUSION

This study highlights the remarkable antioxidant properties of *T. chebula* extracts, particularly the ethyl acetate and methanol fractions, as evidenced by their high phenolic and flavonoid content and efficient free radical scavenging activities. The application of LC-MS/MS and GNPS molecular networking facilitated a comprehensive phytochemical analysis, revealing a diverse array of bioactive compounds with therapeutic potential. These results not only reinforce the medicinal value of *Terminalia chebula* but also provide a scientific basis for its application in the development of antioxidant-based therapies and

products. Future research should focus on isolating specific compounds and evaluating their mechanisms of action in oxidative stress-related diseases.

Acknowledgments. This work was sponsored by the Vietnam Academy of Science and Technology under project number NCVCC19.02/24-25.

REFERENCES

1. Hassan Bulbul MdR., Uddin Chowdhury MN., Naima TA., Sami SA., Imtiaj MdS., Huda N., et al. A comprehensive review on the diverse pharmacological perspectives of *Terminalia chebula* Retz. *Heliyon* **2022**, *8*(8), e10220.
2. Bag A, Bhattacharyya SK, Chattopadhyay RR. The development of *Terminalia chebula* Retz. (Combretaceae) in clinical research, *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, **2013**, *3*(3), 244-252.
3. PC Gupta. Biological and pharmacological properties of *Terminalia chebula* Retz. (Haritaki) - An overview, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, **2012**, *4*(3), 62-68.
4. Sultan MT., Anwar MJ., Imran M., Khalil I., Saeed F., Neelum S. et al. Phytochemical profile and pro-healthy properties of *Terminalia chebula*: A comprehensive review, *Int. J. Food Prop*., **2023**, *26*(1), 526-551.
5. Pizzino G., Irrera N., Cucinotta M., Pallio G., Mannino F., Arcoraci V. et al. Oxidative Stress: Harms and benefits for human health, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2017**, *2017*(1). DOI: 10.1155/2017/8416763.
6. Jomova K., Raptova R., Alomar SY., Alwasel SH., Nepovimova E., Kuca K., et al. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging, *Arch Toxicol*., **2023**, *97*(10), 2499-2574.
7. Dhingra AK., Chopra B., Grewal AS., Guarve K. Pharmacological properties of Chebulinic acid and related ellagitannins from nature: An emerging contemporary bioactive entity, *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*, **2022**, *5*, 100163.
8. Bag A., Bhattacharyya SK., Chattopadhyay RR. The development of *Terminalia chebula* Retz. (Combretaceae) in clinical research, *Asian Pac J Trop Biomed*., **2013**, *3*(3), 244-252.
9. Thomas SN., French D., Jannetto PJ., Rappold BA., Clarke WA. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for clinical diagnostics, *Nature Reviews Methods Primers* **2022**, *2*(1), 96.
10. Sashidhara K. V., Rosaiah JN. Various dereplication strategies using LC-MS for rapid natural product lead identification and drug discovery, *Nat. Prod. Commun.*, **2007**, *2*(2). DOI: 10.1177/1934578X0700200218.
11. Sarkar J., Singh R., Chandel S. Understanding LC/MS-based metabolomics: A detailed reference for natural product analysis, *Proteomics Clin. Appl.*, **2024**. DOI: 10.1002/prca.202400048.
12. Nothias L. F., Petras D., Schmid R., Dührkop K., Rainer J., Sarvepalli A., et al. Feature-based molecular networking in the GNPS analysis environment, *Nat. Methods.*, **2020**, *17*(9), 905-908.
13. Wang M., Carver JJ., Phelan V. V., Sanchez L. M., Garg N., Peng Y., et al. Sharing and community curation of mass spectrometry data with global natural products social molecular networking, *Nat. Biotechnol.*, **2016**, *34*(8), 828-837.

14. Akkol EK., Göger F., Koşar M., Başer KHC. Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey, *Food. Chem.*, **2008**, *108*(3), 942-949.

15. Djeussi DE., Noumedem Kenfack JA., Noumedem Anangmo CN., Simeni Njonnou SR., Ngongang Ouankou C., Yossa Nzeuwa IB. et al. Radical scavenging activities, total reducing power, total phenolic and flavonoids contents of four common vegetables, *European Journal of Biology and Biotechnology*, **2022**, *3*(1), 75-80.

16. Kim C-K., Yu J., Lee M. Molecular Networking-guided isolation of a phenolic constituent from *Prunus mume* seed and its antioxidant and anti-inflammatory activities, *Foods* **2023**, *12*(6), 1146.

17. Mukhopadhyay D., Dasgupta P., Sinha Roy D., Palchoudhuri S., Chatterjee I., Ali S., et al. A Sensitive *in vitro* Spectrophotometric Hydrogen Peroxide Scavenging Assay using 1, 10-Phenanthroline, *Free Radicals and Antioxidants*, **2016**, *6*(1), 124-132.

18. Nwidu LL., Alikwe PCN., Elmorsy E., Carter WG. An investigation of potential sources of nutraceuticals from the niger delta areas, nigeria for attenuating oxidative stress, *Medicines*, **2019**, *6*(1), 15.

19. Li K., Diao Y., Zhang H., Wang S., Zhang Z., Yu B., et al. Tannin extracts from immature fruits of *Terminalia chebula* Fructus Retz. promote cutaneous wound healing in rats, *BMC Complement Altern Med.*, **2011**, *11*, 86.

20. Nigam M., Mishra AP., Adhikari-Devkota A., Dirar AI., Hassan MdM., Adhikari A. et al. Fruits of *Terminalia chebula* Retz.: A review on traditional uses, bioactive chemical constituents and pharmacological activities, *Phytotherapy Research*, **2020**, *34*(10), 2518-2533.

Corresponding authors: **Le Tien Dung**
Institute of Applied Materials Science
Vietnam Academy of Science and Technology
1B, TL29, Thanh Loc ward, District 12, Ho Chi Minh City, Vietnam
Email: inpcdung@yahoo.com.

Pham Thi Nhat Trinh
Department of Natural Science, Tien Giang University
119, Ap Bac, My Tho, Tien Giang, Vietnam
Email: phamthinhattrinh@tgu.edu.vn.

BÀI TOÁN VỀ KIỂM SOÁT TRAI, ỐC NƯỚC NGỌT ĐỂ PHÒNG CHỐNG SỰ LAN TRUYỀN BỆNH SÁN LÁ KÝ SINH VÀ VIỆC BẢO VỆ ĐA DẠNG SINH HỌC CỦA NHÓM ĐỘNG VẬT NÀY

Nguyễn Mạnh Hùng[1,2*], Nguyễn Văn Hà[1]

[1]Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

[2]Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

Trai, ốc nước ngọt rất đa dạng, là thành phần quan trọng trong cấu trúc quần xã sinh vật của hầu hết các hệ sinh thái nước ngọt. Một số loài đóng vai trò là vật chủ trung gian của các loài giun sán ký sinh gây bệnh cho con người và vật nuôi; nhiều loài cũng gây thiệt hại lớn cho cây trồng, ví dụ ốc bươu vàng *Pomacea canaliculata* gây hại cho lúa nước. Để phòng chống các bệnh truyền lây do trai, ốc nước ngọt hay bảo vệ mùa màng, cần phải có các biện pháp kiểm soát các loài động vật thân mềm này. Muốn thực thi các biện pháp kiểm soát những loài nguy hại một cách hiệu quả đồng thời tránh xung đột với việc bảo vệ đa dạng sinh học nhóm trai, ốc nước ngọt, giảm thiểu tác động đến môi trường thì cần phải dựa trên kiến thức về sự truyền lây bệnh tại địa phương và cơ sở về sinh học, sinh thái học của các loài động vật thân mềm. Bài báo phân tích tổng quan về sự đa dạng của nhóm động vật thân mềm ở Việt Nam, gồm 95 loài ốc thuộc 42 giống, 21 họ và 75 loài trai thuộc 30 giống, 8 họ, những loài có ý nghĩa y học, các biện pháp kiểm soát đã, đang áp dụng và các vấn đề tồn tại.

Từ khóa: Bảo tồn, động vật thân mềm nước ngọt, kiểm soát sinh học, sinh thái bệnh.

1. MỞ ĐẦU

Trai, ốc nước ngọt thuộc nhóm động vật thâm mềm (Mollusca) là một cấu phần quan trọng của khu hệ động vật nước ngọt. Trong tháp dinh dưỡng, chúng là động vật tiêu thụ sơ cấp quan trọng và đồng thời cũng là nguồn thức ăn cho nhiều nhóm loài động vật không xương sống và động vật có xương sống, bao gồm cả con người. Nhiều loài động vật chỉ chuyên ăn trai, ốc, ví dụ như cá trắm đen (*Mylopharyngodon piceus*).[1,2] Mặt khác, các loài trai, ốc nước ngọt đóng vai trò là vật chủ trung gian I trong vòng đời của lớp sán lá song chủ Trematoda.[3] Nhiều bệnh do sán lá ký sinh gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe con người, ví dụ như bệnh sán lá máu schistosomiosis, bệnh sán lá gan lớn fascioliosis, bệnh sán lá gan nhỏ clonorchiosis, opisthorchiosis, bệnh sán lá phổi paragonimiosis,… có thể gây tử vong. Sán lá ký sinh còn làm chậm quá trình sinh trưởng, phát triển của vật nuôi trên cạn như trâu, bò,… hay động vật thủy sản như cá và có thể dẫn đến hiện tượng cá chết hàng loạt.[4,5] Nguyen *et al.*[6] đã thống kê được 21 loài ốc nước ngọt thuộc 7 họ đã được ghi nhận là vật chủ trung gian I của ít nhất 50 loài sán lá. Một số loài trai, ốc nước ngọt còn là vật chủ trung gian của giun tròn Nematoda, ví dụ như loài giun phổi *Angiostrongylus cantonensis* ở chuột, giai đoạn ấu trùng chúng ký sinh ở người có thể gây viêm màng não tăng bạch cầu ái toan.[7] Các loài khác, đặc biệt là ốc bươu vàng *Pomacea canaliculata* gây thiệt hại nghiêm trọng cho nông nghiệp, phá hoại các cánh đồng lúa mới trồng.[8,9]

Khu hệ trai, ốc nước ngọt của Việt Nam rất đa dạng, đặc biệt là ở những hệ thống sông lớn như lưu vực đồng bằng sông Cửu Long, Sông Hồng, Sông Đà,…[10,11] Mặc dù việc kiểm soát một số loài trai, ốc nước ngọt là cần thiết để phòng chống một số bệnh truyền lây qua

nhóm động vật này, việc thực thi kiểm soát cần phải thực hiện trong một phạm vi giới hạn và nếu có thể thì chỉ tập trung vào các địa điểm truyền bệnh cụ thể, để không gây nguy hiểm đến đa dạng độc đáo của quần thể trai, ốc trong khu vực. Các mối đe dọa đối với đa dạng sinh học bao gồm: biến đổi môi trường do xây dựng các đập ngăn dòng; ô nhiễm môi trường và các loài ngoại lai xâm lấn như ốc bươu vàng *P. canaliculata*.[12]

Hiện nay đã có những biện pháp y tế điều trị hiệu quả cho một số bệnh ký sinh trùng ở người và động vật, nhưng vẫn cần có các biện pháp phòng ngừa để giảm lây truyền bệnh, ví dụ như kiểm soát vật chủ trung gian, bởi vì con đường lây truyền thường phức tạp do sự hiện diện của vật chủ cuối cùng hoặc vật chủ chứa mà con người không kiểm soát được. Ví dụ như sán lá thuộc họ Heterophyidae có một số loài sán lá trưởng thành ký sinh ở cả người và chim như: *Centrocestus armatus, C. cuspidatus, C. formosanus, Haplorchis pumilio, H. taichui,…*[3] Thực tế rất khó xác định chính xác vị trí lây truyền từ sự phân bố của các loài động vật thân mềm là vật chủ trung gian bị nhiễm cũng như định loại chính xác các loài sán dựa vào các đặc điểm hình thái. Ngoài ra, tỷ lệ nhiễm ấu trùng sán ở vật chủ trung gian là rất thấp, thường dưới 1% nhưng đôi khi có thể cao hơn.[6,13,14] Tuy nhiên với tỷ lệ nhiễm thấp ở vật chủ trung gian vẫn có thể dẫn tới tỷ lệ nhiễm cao ở vật chủ cuối (đối với sán lá máu) hoặc vật chủ trung gian II.[15,16]

Để kiểm soát hiệu quả các bệnh sán lá ký sinh, cần phải có kiến thức chi tiết về các con đường lan truyền bệnh và cần áp dụng phương pháp tiếp cận toàn diện để kiểm soát. Không có biện pháp kiểm soát đơn lẻ nào có thể giảm mức độ nhiễm một cách bền vững. Để phát triển các biện pháp can thiệp chống lại các loài trai, ốc là vật chủ trung gian I của sán hoặc các loài phá hoại mùa màng, cần phải có hiểu biết tổng thể về toàn bộ khu hệ trai, ốc nước ngọt, đặc biệt là những loài là vật chủ trung gian do sán lá gây ra. Ngoài ra, cũng cần có thông tin chính xác về sự phân bố, môi trường sống ưa thích, sự thay đổi về cường độ nhiễm, tỷ lệ nhiễm sán theo mùa.

Chính vì vậy, trong bài báo này, chúng tôi cung cấp thông tin khoa học tổng quan về sự đa dạng trai, ốc nước ngọt ở Việt Nam, tầm quan trọng về mặt y học của chúng, các biện pháp có thể sử dụng để diệt trừ ốc cũng như thảo luận về giải quyết mâu thuẫn giữa việc kiểm soát ốc và bảo vệ đa dạng sinh học.

2. ĐA DẠNG SINH HỌC TRAI, ỐC NƯỚC NGỌT

Cho đến nay, khu hệ trai, ốc nước ngọt của Việt Nam ghi nhận 170 loài thuộc 73 giống, 29 họ, trong đó, có 95 loài ốc (42 giống, 21 họ) và 75 loài trai (30 giống, 8 họ).[11,17] Tuy nhiên, số lượng loài trai, ốc này có thể chưa đầy đủ so với thực có trong thiên nhiên Việt Nam hiện nay bởi nhiều loài, đặc biệt là những loài có kích thước nhỏ hay những loài phân bố trong phạm vị hẹp như trên các thủy vực nước ngọt ở các đảo xa bờ còn chưa được khám phá nhiều.

Đối với thành phần loài đã biết, tính chất đa dạng của trai, ốc nước ngọt ở nước ta thể hiện sự phong phú về số lượng giống. Chỉ có 7 giống là có từ 5 loài trở lên, trong khi có 37 giống chỉ có duy nhất 1 loài. Số lượng loài đặc hữu ở Việt Nam là 46, điều này thể hiện tính chất đặc trưng cao của khu hệ trai, ốc nước ngọt.

Tuy nhiên, đa dạng sinh học của trai, ốc nước ngọt ở Việt Nam đang bị đe dọa, nhiều loài đã không còn bắt gặp ngoài tự nhiên, như các loài thuộc họ trai cóc Amblemidae và họ trai sông Unionidae.[11] Khu vực Đông Nam Á có 32 loài ốc và 16 loài trai được xếp trong Danh lục Đỏ của IUCN, thì Việt Nam có 3 loài ốc và 13 loài trai, trong đó, có 9 loài trai là đặc hữu.[11]

Sự suy giảm đa dạng sinh học của khu hệ trai, ốc nước ngọt Việt Nam do tác động của con người và sự thay đổi của môi trường sống. Ngoài ra, do động vật thân mềm có đặc điểm sinh học như sống tĩnh, ít di chuyển, cơ thể nhạy cảm, thành thục sinh dục chậm và không

mắn đẻ so với tuổi thọ dài và các nhóm động vật không xương sống khác. Đặc điểm này làm cho chúng không có khả năng thích nghi với những biến động lớn của môi trường như thay đổi dòng chảy do các công trình xây dựng, ô nhiễm môi trường, hóa chất độc hại,... Mặt khác, do sự khai thác quá mức của con người đối với nhóm động vật thân mềm này làm thực phẩm hay đồ mỹ nghệ hoặc khai thác quá mức quần thể cá trong tự nhiên cũng làm cho các loài trai bộ Unionoida mất đi vật chủ mà chúng ký sinh trong giai đoạn ấu trùng glochidia.

Danh sách các họ trai, ốc nước ngọt dưới đây đề cập đến số lượng loài trong mỗi họ và những loài có ý nghĩa y học liên quan đến sự truyền lây bệnh ký sinh trùng ở người và động vật.

LỚP CHÂN BỤNG GASTROPODA

Họ Viviparidae Gray, 1847

Họ Viviparidae ở Việt Nam ghi nhận có 9 loài và chưa có loài nào được ghi nhận là vật chủ trung gian I của các loài sán lá, tuy nhiên, chúng thường là vật chủ trung gian II của sán lá họ Echinostomatidae.[3,11,18] Nhiều loài ốc trong họ này được sử dụng làm thức ăn, ví dụ loài *Angulyagra polyzonata*, *Sinotaia aeruginosa*.[17] Như vậy, nếu ốc chứa ấu trùng cảm nhiễm và không được nấu chín đủ, người ăn sẽ bị nhiễm sán.

Họ Ampullariidae (Pilidae) Gray, 1847

Họ Ampullariidae ở Việt Nam ghi nhận có 5 loài, trong đó có 3 loài bản địa và 2 loài ngoại lai. Cả 5 loài ốc đều không ghi nhận là vật chủ trung gian I của sán lá, nhưng chúng cũng có thể là vật chủ trung gian II của một số loài sán giống *Echinostoma*. Trong họ ốc này, chỉ có giống *Pila* hiện diện ở nước ta và các loài này là nguồn thực phẩm được ưa chuộng đối với con người.[11] Có hai loài ngoại lai xâm hại là ốc bươu vàng *Pomeacea canaliculata* và *P. insularum* cũng thuộc họ này,[17] chúng là vật chủ trung gian của loài giun phổi *Angyostrongylus cantonensis*.[7]

Họ Bithyniidae Walker, 1927

Đã ghi nhận có 7 loài ốc thuộc họ Bithyniidae tại Việt Nam.[11] Họ ốc này có ý nghĩa lớn đối với y học bởi nhiều loài là vật chủ trung gian I của các loài sán lá gây bệnh ở người và gia súc. Loài ốc *Parafossarulus manchuricus* là vật chủ thích hợp của sán lá gan nhỏ *Clonorchis sinensis*,[19] loài *Bythinia funiculata* và *B. siamensis goniomphalos* là vật chủ trung gian I của loài sán lá gan nhỏ *Opisthorchis vivierrini*.[6]

Các loài ốc thuộc họ này có thể ăn thực vật thủy sinh hoặc ăn lọc, chúng có thể tìm thấy trong hệ thống ao nuôi trồng thủy sản với mật độ cao, tuy nhiên chúng thường tìm thấy ở các kênh mương nhỏ và ruộng lúa.[20] Trong thời gian vụ lúa xuân, mật độ ốc rất cao ở các cánh đồng mới trồng.

Họ Pomatiopsidae Stimpson, 1865

Họ Pomatiopsidae rất đa dạng, là vật chủ quan trọng của nhiều loài sán lá gây bệnh nguy hiểm cho con người. Loài *Oncomelania* spp. là vật chủ trung gian I của sán lá máu *Schistosoma japonicum* ở Trung Quốc hay *Neotricula aperta* là vật chủ của *S. mekongi*.[17] Ở Việt Nam, có 13 loài thuộc họ ốc này,[11] trong đó, ốc *Vietricula* sp. là vật chủ của sán lá phổi *Paragonimus heterotremus*.[21]

Họ Stenothyridae Fischer, 1887

Có 11 loài thuộc giống *Stenothyra* hiện diện tại Việt Nam.[10] Không loài ốc nào trong họ Stenothyridae được biết là vật chủ trung gian quan trọng của các loài sán lá.[18] Tuy nhiên, Dung *et al.*[20] đã ghi nhận nhóm ấu trùng pleurolophocercous từ loài *Stenothyra messageri* ở vùng đồng bằng Sông Hồng. Mặc dù chưa định loại chính xác tên loài sán lá từ nhóm ấu trùng pleurolophocercous, tuy nhiên, đây là nhóm sán lá có thể truyền bệnh cho con người.

Họ Assimineidae Adams & Adams, 1858

Họ Assimineidae có phân bố ở cận nhiệt đới, nhưng cũng được tìm thấy ở những vùng có khí hậu ôn đới.[18] Ở Việt Nam chỉ có sự hiện diện của 5 loài thuộc giống *Asiminea*,[11] các loài này chỉ được tìm thấy ở rừng ngập mặn, nơi mà ổ sinh thái của chúng liên quan chặt chẽ với thủy triều. Tại các cơ sở nuôi trồng thủy sản nước lợ ở Nha Trang thấy có sự xuất hiện nhiều của các loài ốc trong họ này, do đó, chúng có thể liên quan đến việc truyền lây sán lá trong môi trường nước lợ trong khắp khu vực.[17]

Họ Fairbankiidae Thiele, 1928

Ở Việt Nam ghi nhận 3 loài thuộc họ Fairbankiidae, bao gồm *Fairbankia cochichinensis, F. rohdei* và *Fluvicingula elongata*.[11] Chưa có báo cáo nào về sự lây truyền sán lá qua nhóm ốc này.

Họ Iravadiidae Thiele, 1928

Họ Iravadiidae hiện chỉ có 3 loài được ghi nhận ở Việt Nam, gồm *Iravadia ornata, I. reticula* và *I. tuberculata*.[11] Các loài này cũng chưa ghi nhận là vật chủ trung gian I của sán lá.

Họ Lithoglyphidae Fischer, 1885

Đã ghi nhận hai loài *Paraprososthenia levayi* và *Lacunopsis harmandi* thuộc họ Lithoglyphidae cho khu hệ ốc nước ngọt Việt Nam.[11] Hai loài này đều chưa ghi nhận là vật chủ trung gian I của sán lá.

Họ Fluminicolidae Clessin, 1880

Chỉ duy nhất 1 loài *Lithoglyphopsis tonkinianus* thuộc họ Fluminicolidae hiện diện ở Việt Nam.[11] Chưa phát hiện sán lá trên loài ốc này.

Họ Amnicolidae Tryon, 1863

Ở Việt Nam chỉ có một loài ốc thuộc giống *Erhaia*.[17] Loài ốc này được ghi nhận là vật chủ trung gian I của sán lá phổi *Paragonimus* ở Trung Quốc và chúng cũng có thể là vật chủ trung gian I của sán lá phổi tại Việt Nam.[22]

Họ Pachychilidae Troschel, 1857

Tại Việt Nam đã ghi nhận được 17 loài, 5 giống thuộc họ Pachychilidae, cụ thể gồm: *Adamietta housei, A. reevei, Brotia annamita, B. costula, B. dautzenbergiana, B. hoabinhensis, B. swinhoei, Sulcospira collyra, S. dakrongensis, S. hainanensis, S. proteus, S. quangtriensis, S. tonkiniana, S. touranensis, S. vietnamensis, Semisulcospira aubryana* và *Paracrostoma paludiformis*.[11] Nhiều loài trong họ ốc này là vật chủ trung gian của loài sán lá phổi *Paragonimus westermani*.[23]

Họ Thiaridae Gray, 1847

Họ ốc này có 5 loài hiện diện ở Việt Nam. Một số loài ốc như *Melanoides tuberculata* có ý nghĩa y học quan trọng bởi chúng là vật chủ trung gian I của các loài sán lá ruột nhỏ họ Heterophyidae và có thể sán lá phổi *P. westermani*.[18,20,23] Nhiều bài báo đề cập đến vài trò của họ ốc này là vật chủ trung gian I của sán lá gan nhỏ *Clonorchis sinensis*,[24] tuy nhiên Nguyen *et al.*[19] đã chứng minh họ ốc này không phải là vật chủ thích hợp của sán lá gan nhỏ.

Họ Potamididae Adams & Adams, 1853

Họ Potamididae chỉ có một số loài *Cerithidea* spp. phân bố ở môi trường nước lợ, ví dụ như trọng hệ thống nuôi trồng thủy sản ở Nha Trang và chúng có thể truyền lây một số loài sán lá có vật chủ trung gian II là cá.[17]

Họ Littorinidae Children, 1834

Ở Việt Nam chỉ có duy nhất loài *Cremnochonchus messageri* thuộc họ Littorinidae.[11] Chưa ghi nhận loài này là vật chủ trung gian của sán lá.

Họ Buccinidae Fleming, 1821

Ở Việt Nam ghi nhận duy nhất loài *Clea* (*Anentome*) *helena* thuộc họ Buccinidae ở đồng bằng sông Cửu Long.[11] Loài ốc này chưa được ghi nhận là vật chủ trung gian I của sán lá và được một số nước ở châu Âu và châu Mỹ sử dụng để kiểm soát các loài ốc khác trong bể thủy sinh.[25]

Họ Lymnaeidae Gray, 1842

Có 4 loài ốc thuộc họ Lymnaeidae hiện diện ở Việt Nam.[11] Họ ốc này có ý nghĩa y học vô cùng quan trọng, một số loài được biết là vật chủ trung gian của nhiều loài sán lá ký sinh ở người và gia súc ví dụ như sán lá gan lớn *Fasciola* spp. Ba loài ốc được xác định là vật chủ của loài sán lá gan lớn ở Việt Nam gồm *Lymnea* (=*Radix*) *swinhoei*, *L.* (=*Radix*) *viridis* và *L.* (=*Radix*) *rubiginosa*.

Họ Physidae Fitzinger, 1833

Họ ốc Physidae phân bố chủ yếu ở châu Mỹ, sau đó chúng được du nhập trên khắp thế giới. Ở Việt Nam có 1 loài *Physa* sp. đã được ghi nhận, tuy nhiên, chưa ghi nhận sự nhiễm sán lá trên loài ốc này.[17]

Họ Bulinidae Baker, 1945

Ở Việt Nam, chỉ duy nhất loài *Indoplanorbis exustus* thuộc họ Bulinidae được ghi nhận và chúng có phân bố rộng, có mặt ở hầu khắp các vùng, miền.[11] Loài ốc này là vật chủ trung gian I của các loài sán máng như *Schistosoma spindale*, *S. indicum* và *S. nasale*.[18,22] Mặc dù các loài sán máng này ký sinh ở gia cầm, tuy nhiên, ấu trùng cercariae của chúng có thể gây viêm da khi chúng đâm xuyên vào cơ thể người. Loài ốc này cùng với loài ốc *Lymnae rubiginosa* được gọi là "ốc ngứa".

Họ Planorbidae Gray, 1840

Planorbidae là họ lớn nhất trong nhóm ốc phổi nước ngọt, với gần 40 giống trên toàn thế giới và phân bố toàn cầu. Một số loài ốc phổ biến ở nhiều thủy vực như *Gyraulus heudei*, *G. convexiusculus*, *Polypylis hemisphaerula*, *Hippeutis umbilicatus* và *Ameriana* sp.,[11] đặc biệt ở ruộng lúa, ốc có mật độ rất lớn. Một số loài trong họ Planorbidae được ghi nhận là vật chủ trung gian I của sán lá họ Echinostomatidae.[26]

Họ Ancylidae Brown, 1844

Chỉ có loài *Ferrissia* (*Pettancylus*) *brenieri* thuộc họ ốc Ancylidae được ghi nhận ở Việt Nam,[11] tuy nhiên, loài ốc này chưa ghi nhận sự nhiễm sán lá.

LỚP HAI MẢNH VỎ BIVALVIA

Họ Arcidae Lamarck, 1809

Chỉ duy nhất loài *Scaphula minuta* của họ Arcidae phân bố ở Việt Nam.[11] Loài trai này vốn có nguồn gốc nước mặn. Chưa ghi nhận ấu trùng sán lá trên họ trai này.

Họ Mytilidae Rafinesque, 1815

Trong họ Mytilidae chỉ có duy nhất loài hà sông *Limnoperna fortunei* hiện diện ở Việt Nam.[11] Loài hà này là vật chủ trung gian I của nhiều loài sán lá gây bệnh nghiêm trọng cho cá nuôi.[27]

Họ Unionidae Fleming, 1828

Họ ngao sông Unionidae rất đa dạng. Ở Việt Nam có 43 loài thuộc 19 giống.[11] Nhiều loài ngao họ Unionidae được ghi nhận là vật chủ trung gian I của sán lá song chủ.[28]

Họ Amblemidae Rafinesque, 1820

Có 9 loài, 4 giống thuộc họ trai Amblemidae hiện diện ở Việt Nam.[11] Hiện nay, chưa ghi nhận loài trai nào là vật chủ trung gian I của sán lá.

Họ Margaritiferidae Henderson, 1929

Ở Việt Nam chỉ có một loài *Margaritanopsis laoensis* thuộc họ trai Margaritiferidae.[11] Hiện chưa có ghi nhận nào về sự nhiễm ấu trùng sán lá trên loài trai này.

Họ Sphaeriidae Deshayes, 1855

Duy nhất loài *Pisidium clarkeanum* thuộc họ trai Sphaeriidae phân bố ở Việt Nam.[11] Tuy loài *P. clarkeanum* chưa phát hiện nhiễm ấu trùng sán lá, nhưng có nhiều loài thuộc họ Sphaeriidae là vật chủ trung gian I của sán lá ruột nhỏ họ Heterophyidae được ghi nhận trên thế giới.[29]

Họ Dreissenidae Gray, 1840

Họ Dreissenidae chỉ có một loài *Sinomytilus hardmandi* phân bố ở vùng đồng bằng Nam Bộ của Việt Nam.[11] Chưa ghi nhận sự nhiễm ấu trùng sán lá trên loài trai này.

Họ Cyrenidae Gray, 1847

Họ trai Cyrenidae rất phong phú, có 18 loài thuộc 2 giống được ghi nhận ở Việt Nam, trong đó giống *Corbicula* có 15 loài, còn giống *Geloina* có 3 loài.[11] Có nhiều loài trai họ Cyrenidae được ghi nhận là vật chủ trung gian I của sán lá,[30,31] trong đó có một số loài hiện diện ở Việt Nam.

3. CÁC BIỆN PHÁP KIỂM SOÁT TRAI, ỐC NƯỚC NGỌT

Các biện pháp để kiểm soát trai, ốc nước ngọt để ngăn ngừa lan truyền bệnh hay bảo vệ cây trồng được thực hiện ở Việt Nam không nhiều và chỉ giới hạn trong việc sử dụng một số loại hóa chất để diệt trừ ốc, hoặc một số biện pháp vật lý, sinh học để loại bỏ môi trường thích hợp cho ốc tồn tại. Việc kiểm soát ốc trong môi trường nuôi trồng thủy sản còn bị hạn chế bởi phải tính đến sự ảnh hưởng của các biện pháp này đến sự sinh trưởng và phát triển của cá nuôi, do đó nhiều loài thuốc diệt động vật thân mềm như niclosamine không thể sử dụng do độc tính của chúng đối với cá.

Tuy nhiên, việc sử dụng hóa chất trong ao nuôi trồng thủy sản hay triển khai trước vụ cá mới có tính khả thi miễn là độc tính của hóa chất biến mất nhanh chóng và các sản phẩm phân hủy từ chúng không tích tụ trong ao. Các biện pháp khác để kiểm soát ốc cũng chủ yếu được thực hiện trước khi thả cá, tương ứng với một phần của quá trình chuẩn bị ao. Biện pháp sinh học có thể thực hiện, ví dụ sử dụng những loài chuyên ăn động vật nhuyễn thể để nuôi ghép với các loài cá nuôi.

3.1. Sử dụng hóa chất

Biện pháp thực tế nhất để đạt được sự giảm thiểu mạnh về mật độ quần thể trai, ốc trong khoảng thời gian ngắn đó là sử dụng hóa chất để diệt.[32] Nhiều loại hóa chất đã được sử dụng để diệt trừ nhóm động vật này, bao gồm: niclosamide, frescon, sunphat đồng ($CuSO_4$), natri pentachlorophenate (C_6Cl_5ONa) và một số loại chất khác.[33] Tuy nhiên, ở thời điểm hiện tại chỉ duy nhất một loại hóa chất là niclosamide được chấp thuận bởi Tổ chức Y tế thế giới (WHO). Tại các nước có bệnh sán máng do *Schistosoma* spp. gây ra, ví dụ ở châu Phi, Trung

Quốc, Lào, Campuchia, niclosamine được sử dụng giới hạn tại các vị trí lây truyền để giảm thiểu tác động đến môi trường. Niclosamine có độc với hầu hết các loài động vật thân mềm và sinh vật khác, đặc biệt là cá, ngay cả khi chúng được sử dụng khu trú. Do vậy, cần phải tìm các chất diệt ốc mới thân thiện với môi trường hơn. Một số loại hóa chất tiềm năng mới cho thấy hiệu quả cao trong việc tiêu diệt những loài động vật thân mềm mục tiêu ví dụ như B-2 (B-2-sodium,2,5 dichloro-4-bromophenol; $C_6H_3BrCl_2O$), Chloroacetamide và Bromoacetamide,… hay có thể dựa vào công nghệ nano,[34] hoặc độc tố có nguồn gốc từ sinh vật ví dụ như vi khuẩn lam.[35]

Ở Việt Nam, nhiều loại thuốc diệt ốc với thành phần là metaldehyde, niclosamide hay đồng sunphat đang được sử dụng chủ yếu để diệt ốc bươu vàng *P. canaliculata* trong ruộng lúa hay các loài ốc, động vật hai mảnh khác ở ao nuôi thủy sản.[33] Ngoài ra, việc phun thuốc trừ sâu, hóa chất diệt cỏ, phân bón,… trong quá trình canh tác nông nghiệp cũng dẫn đến sự tiêu diệt các loài thân mềm nói chung và động vật thủy sinh nói riêng.

Trong hệ thống ao nuôi thủy sản, bón vôi được coi là một phần không thể thiếu trong việc vận hành, quản lý ao nuôi. Việc bón vôi giúp cải thiện tính chất hóa học của đất như giảm độ chua của đất, tăng tổng độ kiềm, trung hòa sunphua và axit, kết tủa các chất hữu cơ lơ lửng hoặc hòa tan, giảm nhu cầu oxy sinh hóa, cải thiện nền đáy có kết cấu mịn khi có các chất hữu cơ lắng và cải thiện quá trình nitrat hóa.[36] Vôi cũng được sử dụng làm thuốc trừ sâu và khử trùng.[37] Có một số loại vôi được sử dụng trong ao nuôi, phổ biến nhất là hỗn hợp của canxi và magie cacbonat; vôi sống (CaO) cũng được sử dụng nhưng không phổ biến do chúng có tính ăn mòn và phải được xử lý cẩn thận trước và sau khi sử dụng. Tuy nhiên, hầu hết các loại vôi này, ngoại trừ vôi sống, có ít tác dụng đối với các loài nhuyễn thể trong ao nuôi thủy sản. Vôi tôi đã được sử dụng như một loại chất diệt động vật thân mềm trong hệ thống nuôi cá da trơn ở Mỹ,[38] mục tiêu là các loài ốc phổi (*Pulmonata*). Vôi tôi bón dọc theo mép ao cũng có thể gây độc cho cá nếu chúng di chuyển vào khu vực này.

3.2. Kiểm soát môi trường

Việc xây dựng các đập thủy lợi, đập thủy điện có thể góp phần làm thay đổi cấu trúc quần thể ốc, đặc biệt là trong thời gian điều tiết nước cho tưới tiêu. Những loài ốc lưỡng cư đặc biệt nhạy cảm với kiểu tác động môi trường này do bản chất môi trường sống tự nhiên của chúng.[39,40] Các biện pháp như đào kênh, bê tông hóa kênh đào, ngầm hóa kênh, các chế độ cấp thoát nước thích hợp, loại bỏ thảm thực vật thủy sinh, lấp đất, đào ao hay cải tiến các biện pháp canh tác trong nông nghiệp đều có thể làm giảm quy mô hay loại trừ các quần thể ốc. Ở Trung Quốc, biện pháp này được thực hiện để kiểm soát ốc *Oncomelania* spp. là vật chủ trung gian của sán lá máu *Schistosoma japonicum*.[41] Các biện pháp này cũng có giá trị trong việc kiểm soát ốc mang trước Prosobranchia và trai sống hoàn toàn trong môi trường nước, nhưng ở mức độ ít hơn nhiều so với ốc phổi. Thường thì thiết kế của các cửa cống và các đập tràn, đặc biệt là đập tràn ngược, tạo ra nhiều địa điểm sinh sản thuận lợi cho nhóm ốc này, ngay cả các mương được bê tông hóa.[33]

Các hồ chứa nước trong hệ thống thủy lợi có thể là điểm dịch tễ quan trọng của sự truyền lây bệnh sán lá. Sự dao động thường xuyên của mực nước trong hồ chứa có thể ảnh hưởng đến quần thể trai, ốc.[42] Các loài thực vật thủy sinh đóng vai trò quan trọng đối với quần thể ốc bởi chúng là nguồn thực phẩm và cũng là nơi trú ẩn của nhiều loài ốc. [43] Việc loại bỏ hoặc ngăn ngừa sự phát triển của các loài thực vật thủy sinh cũng giúp kiểm soát được các quần thể ốc. Việc sử dụng các loài cá ăn thực vật như cá trắm cỏ *Ctenopharyngodon idella* để vừa tận dụng nguồn thức ăn tự nhiên và ngăn ngừa các loài thực vật thủy sinh lan tràn đã chứng minh hiệu quả hơn dùng chất diệt cỏ và làm giảm đáng kể mật độ vật chủ trung gian.[44]

Vật chủ trung gian I của các loài sán lá truyền qua cá trong ao nuôi chủ yếu là các loài ốc mang trước prosobranch; chúng phân bố khắp trong ao và có thể chui xuống bùn khi nước ao được tháo hết sau khi thu hoạch.[17,33] Quá trình vệ sinh ao, loại bỏ bùn khỏi ao sau khi thu

hoạch với mục đích làm giảm các loại nấm, vi khuẩn kỵ khí có thể gây bệnh cho cá cũng loại bỏ một lượng lớn ốc.[33] Khi cấp nước trở lại trong ao, cần sử dụng lưới lọc đẻn ngăn ốc (bao gồm ốc trưởng thành, ốc non, hay trứng ốc) quay trở lại.[15]

Ốc cũng có thể bị thu hút bởi một số bề mặt nhất định như lá cây, nắp nhựa có tảo ở phía trên, các cành cây gãy,… Việc sử dụng các bề mặt trên đặt dọc theo chu vi của ao và thường xuyên kiểm tra để loại bỏ những cá thể ốc bám cũng làm giảm mật độ ốc trong ao.[33]

3.3. Kiểm soát sinh học

Sử dụng các loại sinh vật thích hợp để làm giảm mật độ của các loài mục tiêu cần kiểm soát. Các loài sinh vật sử dụng để kiểm soát có thể là vật ăn thịt, ký sinh trùng, mầm bệnh hay loài cạnh tranh.[45]

Vật ăn thịt là những loài tiêu thụ con mồi trong suốt thời gian sống của chúng. Những loài ăn thịt đơn thực (chuyên đi săn một loại con mồi) có khả năng trở thành loài dùng để kiểm soát.[46] Động vật chuyên ăn trai, ốc rất đa dạng, từ các động vật có xương sống như lớp chim, thú, cá hay các loài động vật không xương sống như các loài đỉa đặc biệt là các loài *Glossiphoniids*.[33] Nhóm cá chuyên ăn ốc ví dụ như cá trắm ốc *Mylopharyngodon piceus* đã được thử nghiệm thành công dùng để diệt ốc trong ao nuôi với mục đích ngăn ngừa sự lây truyền sán lá.[33] Tuy nhiên, việc sử dụng những loài cá không phải là loài bản địa để kiểm soát ốc phải rất cẩn trọng bởi chúng có thể thích ứng với hệ sinh thái mới và gây ra sự phá hủy hệ sinh thái tự nhiên không thể lường trước. Ví dụ cá trắm đen được di nhập vào bang Missisippi của Mỹ từ những năm 1970 để kiểm soát một số loài ốc gây hại trong các trại nuôi cá, do ốc là vật chủ truyền bệnh sán lá *Bolbophorus confusus* gây chết hàng loạt ở cá nuôi, tuy nhiên, cá trắm đen hiện được coi là loài ngoại lai xâm hại khi chúng là nguy cơ làm tuyệt chủng những loài thân mềm bản địa ở bang Missisippi.[47]

Một số loài ký sinh trùng có thể sử dụng để kiểm soát quần thể trai, ốc dù chúng thường làm suy yếu hơn là làm chết vật chủ. Một số loài đỉa như *Helobdella punctatolineata* ký sinh ở các loài trai, ốc có kích thước lớn.[48] Nhiễm sán lá cũng tác động đáng kể đến quần xã động vật thân mềm, Brown[49] nhận thấy sán lá làm giảm tỷ lệ sinh của quần thể ốc khoảng 10-20%.

Các mầm bệnh là các loài vi sinh vật có khả năng giết chết vật chủ của chúng bằng cách nhân bản lên hàng triệu lần. Cho đến nay vẫn chưa sàng lọc được các loài vi sinh vật chuyên biệt để diệt ốc, tuy nhiên, một số loài vi khuẩn đã được phát hiện gây bệnh cho ốc như: *Bacillus pinotii*.[50] Chủng SS86-4 là một trong 40 chủng *Bacillus brevis* được chứng minh là có tác dụng diệt các loài động vật thân mềm, ví dụ như ốc *Biomphalaria glabrata* - vật chủ trung gian của sán lá máu *Schistosoma mansoni*.[51] Một số loại nấm cũng được biết đến có khả năng diệt trứng ốc, nhưng nhiều loài trong số này là nấm hoại sinh nên có giá trị hạn chế hoặc không có giá trị trong việc kiểm soát sinh học. Nhiều loài đơn bào cũng được mô tả là gây hại cho vật chủ trai, ốc nước ngọt, ví dụ như *Dimeriopsis destructor*, *Haplosporidium* sp.[52,53]

Với các loài cạnh tranh thì thường sử dụng những loài có ổ sinh thái trùng với loài mục tiêu dẫn đến sự tranh giành nguồn thức ăn, nơi trú ẩn,… Như vậy, loài cạnh tranh phải là các loài trai, ốc nước ngọt khác không đóng vai trò là vật chủ trung gian I của sán lá.[33] Việc sử dụng loài cạnh tranh dựa trên "nguyên tắc loại trừ cạnh tranh" hay "nguyên tắc Gause".[54] Trên thế giới, một vài loài ốc đã được sử dụng làm tác nhân kiểm soát sinh học để làm giảm quần thể ốc truyền bệnh sán lá máu, ví dụ như dùng loài *Pomacea glauca*, *Marisa cornuarietis*, *Helisoma duryi*, *Melanoides tuberculate*, *Tarebia granifera*,…[33] Những loài ốc này dùng để cạnh tranh với các loài *Biomphalaria* spp. và *Bulinus* spp. là vật chủ trung gian I của sán máng *Schistosoma* spp. về khu vực phân bố và nguồn tài nguyên. Tuy nhiên, sự ảnh hưởng của loài cạnh tranh đến loài mục tiêu phụ thuộc rất nhiều vào điều kiện tự nhiên, ví dụ như loài *Melanoides tuberculata* đã kiểm soát thành công *Biomphalaria* spp. ở Venezuela và khu vực Caribe khi chúng là loài xâm hại.[55] Ở châu Phi, loài *M. tuberculata* rất phổ biến và

chúng không có ảnh hưởng tiêu cực nào đến ốc *B. pfeifferi* và cả hai loài cùng tồn tại trong thủy vực.[56]

4. CÂN BẰNG GIỮA VIỆC KIỂM SOÁT VÀ BẢO VỆ ĐA DẠNG SINH HỌC TRAI, ỐC NƯỚC NGỌT

Việc chống lại các bệnh truyền lây từ động vật sang người như sán lá và ngăn chặn sự mất đa dạng sinh học nói chung và của nhóm động vật thân mềm nói riêng là những thách thức đan xen quan trọng trong việc bảo vệ sức khỏe con người, hệ sinh thái. Một trong những biện pháp ngăn ngừa sự truyền lây của sán lá song chủ (Trematoda) là loại bỏ được vật chủ trung gian I của chúng, đây là các loài trai, ốc nước ngọt. Tuy nhiên, các loài trai, ốc có vai trò vô cùng quan trọng trong chuỗi lưới thức ăn, do vậy mọi nỗ lực để kiểm soát nhóm động vật này cần phải được thực hiện cẩn trọng, có trách nhiệm và chỉ nên diễn ra tại vùng dịch tễ của dịch bệnh, khu trú vào phạm vi nhỏ. Để tập trung vào kiểm soát loài mục tiêu thì cần phải có những phương pháp chẩn đoán chính xác, dễ thực hiện để phát hiện sán lá ký sinh nhạy hơn, đặc hiệu hơn và rẻ hơn cho phép theo dõi tỷ lệ nhiễm, cường độ nhiễm từ đó kiểm soát và phòng ngừa bệnh tốt hơn. Do vòng đời của sán lá song chủ rất phức tạp, để việc kiểm soát bệnh sán lá bền vững thì việc chỉ tiêu diệt quần thể ốc là vật chủ trung gian I là khó khả thi bởi khả năng phục hồi của quần thể ốc trong tự nhiên đặc biệt trong môi trường nước chảy, nguồn bệnh ngoài tự nhiên vẫn còn,… Vậy nên cần phải phối hợp nhiều biện pháp, tác động đồng thời đến các giai đoạn khác nhau trong vòng đời của sán.[57]

Việc quản lý sử dụng thuốc diệt cỏ, thuốc trừ sâu, các loại hóa chất độc hại,… trong nông nghiệp của nước ta hiện còn lỏng lẻo, phần tồn dư cuối cùng đều chuyển vào nguồn nước, là môi trường sống của các loài động vật thân mềm, ảnh hưởng đến sự tồn tại của chúng. Do đó, việc bảo vệ đa dạng sinh học của các loài trai, ốc trong tự nhiên, đặc biệt là những loài nguy cấp, quý hiếm cần phải được quan tâm và thực hiện đồng bộ, từ việc xây dựng các văn bản quy định sử dụng các hóa chất trong nông nghiệp, bảo vệ nguồn nước tại các khu vực, đặc biệt xây dựng các tiêu chí sinh học, sinh thái, đa dạng sinh học và bảo tồn trong quy trình, quy phạm đánh giá tác động môi trường nói chung và đặc biệt thực hiện đánh giá tác động môi trường các công trình ngăn sông, suối, hồ thủy điện, thủy lợi, các loài ngoại lai, các khu bảo tồn, trại nuôi thương phẩm,… đồng thời phải có kế hoạch giảm thiểu các tác động, phục hồi ở những nơi sau dự án, quản lý ô nhiễm nguồn nước, đặc biệt chú ý đến ô nhiễm nguồn bệnh.

Lời cảm ơn. Nghiên cứu được tài trợ bởi Bộ Tài nguyên và Môi trường Ủy quyền cho Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, mã số: UQ.SNMT.01/23-25.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. M. H. Nguyen, D. T. The, J. R. Stauffer, H. Madsen. Feeding behavior of black carp *Mylopharyngodon piceus* (Pisces: Cyprinidae) on fry of other fish species and trematode transmitting snail species, *Biocontrol.*, **2014**, *72*, 118-124.
2. M. H. Nguyen, N. V. Duc, J. R. Stauffer, H. Madsen. Use of black carp (*Mylopharyngodon piceus*) in biological control of intermediate host snails of fish-borne zoonotic trematodes in nursery ponds in the Red River Delta, Vietnam, *Parasit. vectors*, **2013**, *6*, 142.
3. N. T. Lê. Sán lá ký sinh ở người và động vật. Động vật chí Việt Nam, tập 8. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, **2000**.
4. D. A. Cortés, G. Dolz, J. J. R. Zaniga, A. E. J. Rocha, D. L. Alán. *Centrocestus formosanus* (Opisthorchiida: Heterophyidae) as a cause of death in gray tilapia fry *Oreochromis niloticus* (Perciforme: Cichlidae) in the dry Pacific of Costa Rica, *Rev. Biol. Trop.*, **2010**, *58*, 1453-1465.

5. V. V. Kim, H. M. Nguyen, S. E. Greiman, H. V. Nguyen, C. N. Nguyen, M. D. Vu, T. D. Hoai, H. Madsen. Molecular and morphological characterization of *Dollfustrema bagarii* (Digenea: Bucephalidae) metacercariae from aquaculture channel catfish (*Ictalurus punctatus*) in Northern Vietnam, *J. Fish. Dis*., **2022**, *45*, 1165-1171.
6. M. H. Nguyen, S. E. Greiman, H. V. Hoang, C. N. Ngoc, H. V. Nguyen, T. C. Pham, H. Madsen. The diversity of cercariae from freshwater snails in lowland areas of Binh Dinh and Phu Yen provinces, Vietnam, *J. Parasitol*., **2022**, *108*(6), 601-612.
7. Lv. Shan, Y. H. Guo, M. H. Nguyen, M. Sinuon, S. Sayason, N. C. Lo, X. N. Zhou, J. R. Andrews. Invasive *Pomacea* snails as important intermediate hosts of *Angiostrongylus cantonensis* in Laos, Cambodia and Vietnam: Implications for outbreaks of eosinophilic meningitis, *Acta Trop.*, **2018**, *183*, 32-35.
8. S. D. Greene. Extending integrated pest management to the golden apple snail: examining a community centre approach in northeast Thailand. *Int. J. Pest Manage*., **2008**, *54*, 95-102.
9. M. Halwart. The golden apple snail *Pomacea canaliculata* in Asian rice farming systems: present impact and future threat. *Int. J. Pest Manage*., **1994**, *40*(2), 199-206.
10. ĐặngNgọc Thanh, Trần Bái Thái, Phạm Văn Miên. Định loại động vật không xương sống nước ngọt miền Bắc Việt Nam, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, **1980**.
11. Đặng Ngọc Thanh, Hồ Thanh Hải. Trai, ốc nước ngọt nội địa Việt Nam. Động vật chí Việt Nam, tập 29. Nhà xuất bản Khoa học tự nhiên và Công nghệ, **2017**.
12. F. Köhler, M. Seddon, A. E. Bogan, D. V. Tu, P. Sri-Aroon, D. Allen. The status and distribution of freshwater molluscs of the Indo-Burma region, Chapter4. In: D. J. Allen, K. G. Smith, W. R. T. Darwall (Eds.). The Status and Distribution of Freshwater Biodiversity in Indo-Burma. IUCN, Cambridge, UK, Gland, Switzerland, **2012**.
13. R. Ngern-Klun, K. L. Sukontason, S. Tesana, D. Sripakdee, K. N. Irvine, K. Sukontason. Field investigation of *Bithynia funiculata*, intermediate host of *Opisthorchis viverrini* in northern Thailand, *S. E. Asian J. Trop. Med*., **2006**, *37*, 662-672.
14. V. V. Besprozvannykh, H. D. Ngo, N. V. Ha, N. M. Hung, K. V. Rozhkovan, A. V. Ermolenko. Descriptions of digenean parasites from three snail species, *Bithynia fuchsiana* (Morelet), *Parafossarulus striatulus* Benson and *Melanoides tuberculata* Müller, in North Vietnam, *Helminthol*., **2013**, *50*, 190-204.
15. J. H. Clausen, H. Madsen, K. D. Murrell, P. T. Van, N. T. T. Ha, D. T. Dung, N. T. L. Anh, N. M. Hung, A. Dalsgaard. Prevention and control of fish–borne zoonotic trematodes in fish nurseries, Vietnam, *Emerg. Infect. Dis*., **2012**, *18*, 1438-1445.
16. H. Madsen, J. R. Jr. Stauffer. Density of *Trematocranus placodon* (Pisces: Cichlidae): A predictor of density of the schistosome intermediate host, *Bulinus nyssanus* (Gastropoda: Planorbidae), in Lake Malawi, *EcoHealth*, **2011**, *8*(2), 177-189.
17. H. Madsen, N. M. Hung. An overview of freshwater snails in Asia with main focus on Vietnam, *Acta. Trop.*, **2014**, *140*, 372-384.
18. A. M. R. Brandt. The non–marine aquatic mollusca of Thailand. *Arch. Molluskenkd*., **1974**, *105*, 1-247.
19. H. M. Nguyen, H. H. Van, L. T. Ho, Y. V. Tatonova, H. Madsen. Are *Melanoides tuberculata* and *Tarebia granifera* (Gastropoda, Thiaridae), suitable first intermediate hosts of *Clonorchis sinensis* in Vietnam? *PLoS Negl. Trop. Dis*., **2021**, *15*(1), e0009093.
20. B. T. Dung, H. Madsen, D. T. The. Distribution of freshwater snails in family-based VAC ponds and associated waterbodies with special reference to intermediate hosts of fish–

borne zoonotic trematodes in Nam Dinh province, Vietnam, *Acta. Trop*., **2010**, *116*, 15-23.

21. P. N. Doanh. Sự phát triển của trứng sán lá phổi *Paragonimus heterotremus* và các giai đoạn ấu trùng trong cơ thể vật chủ trung gian thứ nhất. *Tạp chí Sinh học*, **2004**, *26*(2), 6-10.
22. L. Liu, M. M. H. Mondal, M. A. Idris, H. S. Lokman, P. R. V. J. Rajapakse, F. Satrija, J. L. Diaz, E. S. Upatham, S. W. Attwood. The phylogeography of *Indoplanorbis exustus* (Gastropoda: Planorbidae) in Asia, *Parasit. vectors*, **2010**, 3.
23. D. Blair, G. M. Davis, B. Wu. Evolutionary relationships between trematodes and snails emphasizing schistosomes and paragonimids. *Parasitol*., **2001**, *123*, S229-S243,
24. N. V. De. Fish-borne trematodes in Vietnam, *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Health*, **2004**, *35*, 299-301.
25. A. R. Coelho, M. T. Dinis, J. Reis. Effect of diet and stocking densities on life history traits of *Clea helena* (Philippi 1847) reared in captivity, *J. Aquac. Res. Dev*., **2013**, *4*, 5.
26. S. W. Attwood. Studies on the parasitology, phylogeography and the evolution of host–parasite interactions for the snail intermediate hosts of medically important trematode genera in southeast Asia, *Adv. Parasitol*., **2010**, *73*, 405-440.
27. M. Hayashi, Y. Sano, T. Ishikawa, T. Hagiwara, M. Sasaki, M. Nakao, M. Urabe, T. Waki. Invasion of fish parasite *Prosorhynchoides ozakii* (Trematoda: Bucephalidae) into Lake Kasumigaura and surrounding rivers of eastern Japan, *Dis. Aquat. Organ*., **2022**, 152.
28. A. Marszewska, A. Cichy. Unionid clams and zebra mussels on their shells (Bivalvia: Unionidae, Dreissenidae) as hosts for trematodes in lakes of the Polish lowland, *Folia Malacologica*, **2015**, *23*(2), 149-154.
29. V. Stunžėnas, R. Petkevičiūtė, K. Zając, J. Dołęga, E. Łuszczek-Trojnar, G. Stanevičiūtė. Discovery of adults of the gorgoderid trematode *Cercaria duplicata* with first morphological description, molecular identification and notes on host specificity, *Scientific Report*, **2024**, *14*(1), 22085.
30. S. Haruay, S. Piratae. Situation and Cercarial Infection of Freshwater Mollusk from Sirindhorn Reservoir, Ubon Ratchathani province, Thailand, *Iran J. Parasitol*., **2019**, *14*(3), 421-429.
31. A. V. Kropotin, Y. V. Bespalaya, A. V. Kondakov, I. Khrebtova, I. N. Bolotov. Infection of *Corbicula* clams by trematode cercariae in Myanmar, *Ecologica Montegegrina*, **2023**, *62*, 1-11.
32. F. S. McCullough. Snail control in relation to a strategy for reduction of morbidity due schistosomiasis, *Trop. Med. Parasitol*., **1986**, *37*, 181-184.
33. M. H. Nguyen. Use of black carp, *Mylopharyngodon piceus* (Cyprinidae), for control of intermediate host snails for fishborne zoonotic trematodes in Vietnam aquaculture ponds. PhD Thesis. University of Copenhagen, Denmark, **2013**.
34. O. T. Oyeyemi. Application of nanotized formulation in the control of snail intermediate hosts of schistosomes, *Acta. Trop.*, **2021**, *220*, 105945.
35. M. Essack, H. S. Alzubaidy, V. B. Bajic, J. A. C. Archer. Chemical compounds toxic to invertebrates isolated from marine cyanobacteria of potential relevance to the agricultural industry, *Toxins*, **2014**, *6*, 3058-3076.
36. P. Kungvankij, T. E. Chua. Shrimp culture: Pond design, operation and management. Iloilo, Network of Aquaculture Centres in Asia (NACA), **1986**.

37. F. D. Apud. Extensive and semi-intensive culture of sugpo (*Penaeus monodon*) in the Philippines. In: Prawn Industry Development in the Philippines: Proceedings of the National Prawn Industry Development Workshop; April 10-13; Iloilo City, Philippines. **1984**.
38. J. S. Terhune, D. J. Wise, J. L. Avery, L. H. Khoo, A. E. Goodwin. Infestations of the trematode *Bolbophorus* sp. in channel catfish. Southern Regional Aquaculture Center Publication No. 1801, **2003**.
39. T. H. Cheng. Schistosomiasis in mainland China. A review of research and control programs since 1949, *Am. J. Trop. Med. Hyg*., **1971**, *20*, 26-53.
40. B. L. Blas. Agro-engineering and sanitation improvement in the control of Schistosoma japonica in the Philippines: a review, *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Health*, **1976**, *7*, 341-345.
41. S. Pai, B. Ruo. Schistosomiasis control in the People' Republic of China, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **1982**, *31*, 92-99.
42. J. M. V. Oomen, J. de Wolf, W. R. Jobin. Health and irrigation. Incorporation of disease control measuresin irrigation, a multi–faceted task in design, construction, operation. Volume 1. ILRI Publication no. 45. Wageningen, the Netherlands: International Institute for Land Reclamation and Improvement, **1990**.
43. T. V. Madsen. A community of submerged aquatic CAM plants in Lake Kalgaard, Denmark, *Aquat. Bot.*, **1985**, *23*, 97-108.
44. C. P. van Schayck. The effect of several methods of aquatic plant control with two bilharzia bearing snails, *Aquat. Bot.*, **1986**, *24*, 303-309.
45. H. Madsen. Method for biological control of schistosome intermediate hosts, an update. Procceding of 'A status of Research on Medical Malacology in Relation to Schistosomiasis in Africa', Zimbabwe, **1996**, 347-376.
46. D. J. Greathead, J. K. Waage. Opportunities for biological control of agricultural pests in developing countries. World Bank Technical Paper Number 11, The World Bank, Washington, **1983**.
47. K. Cummings. Black Carp - A potential catastrophe for North American freshwater mollusks, Tentacle, 9, **2000**.
48. H. H. Sarah. Leeches found on two species of Helisoma from Fleming's creek, Michigan, *Ohio J. Science*, **1971**, *71*, 15-20.
49. D. S. Brown. Freshwater Snails of Africa and their Medical Importance. Taylor and Francis, London, **1980**.
50. E. Dias, M. M. Dawood. Preliminary trials on the biological snail control with *Bacillus pinottii* in Egypt, *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **1955**, *53*, 13-29.
51. S. Singer, T. B. Bair, T. B. Hammill, A. M. Berte, O. M. M. Corrêa, A. D. Stambaugh. Fermentation and toxin studies of the molluscicidal strains of *Bacillus brevis*, *J. Ind. Microbiol*., **1994**, *13*, 112-119.
52. A. Hollande, R. Chabelard. Essai de lutte biologique par "Dimoeriopsis destructor" Hollande et Pesson (Protozoaire Flagellé) contre les bilharzioses et les distomatoses, *Minerva Urologica (Torino)*, **1953**, *5*, 145.
53. J. H. Jr. Barrow. Observation of a Haplosporidian, *Haplosporidium pickfordi* sp. nov. in fresh water snails. *Trans. Am. Micros. Soc*., **1961**, *80*(3), 319-329.
54. G. Hardin. The competitive exclusion principle. *Science*, **1960**, *131*, 1292-1297.

55. J. P. Pointier, J. Jourdane. Biological control of the snail hosts of schistosomiasis in areas of low transmission: the example of the Caribbean area, *Acta. Trop*., **2000**, *77*, 53-60.

56. H. Madsen, A. A. Daffalla, K. O. Karoum, F. Frandsen. Distribution of freshwater snails in irrigation schemes in the Sudan, *J. Appl. Ecol.*, **1988**, *25*, 853-866.

57. H. M. Nguyen, D. T. Do, S. E. Greiman, H. V. Nguyen, H. V. Hoang, T. Q. Phan, P. Pham-Duc, H. Madsen. An overview of human helminthioses in Vietnam: Their prevention, control and lessons learnt, *Acta Trop*., **2023**, *238*, 106753.

Liên hệ: **Nguyễn Mạnh Hùng**
Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: hung_iebr@yahoo.com.

CÁC HỢP CHẤT SPIROSTANOL STEROID TỪ RỄ LOÀI *Dracaena elliptica*

Ngô Anh Bằng, Phan Thị Thanh Hương, Nguyễn Việt Dũng, Dương Thị Hải Yến, Đan Thị Thúy Hằng, Nguyễn Xuân Nhiệm, Bùi Hữu Tài, Phan Văn Kiệm*

Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

Tám hợp chất spirostanol sreroid bao gồm 26-*O*-*β*-D-glucopyranosylfurosta-5,20(22),25(27)-triene-l*β*,3*β*,26-triol 1-*O*-{*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*α*-L-arabinopyranoside} (**1**), ruscoponticoside (**2**), 26-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-furosta-5,25(27)-diene-1*β*,3*β*,22*α*,26-tetrol 1-O-{*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*O*-[*β*-D-xylopyranosyl(1→3)]-*α*-L-arabinopyranoside} (**3**), spirosta-5,25(27)-diene-1*β*,3*β*-diol 1-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*O*-{4-sulfo-*α*-L-arabinopyranoside} (**4**), namonin C (**5**), alliospiroside A (**6**), recurvoside C (**7**), (23*S*,24*S*)-1-*O*-{*O*-(2,3,4-*O*-triacetyl-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*O*-[*β*-*D*-xylopyranosyl (**8**) phân lập được từ rễ loài *Dracaena elliptica*. Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định dựa trên dữ liệu phổ 1D, 2D-NMR kết hợp với so sánh các dữ liệu đã được công bố trước đó.

Từ khóa: Spirostanol setorid, *Dracaena elliptica*, huyết giác.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dracaena elliptica Thunb. là một loài thực vật thuộc chi *Dracaena* (Huyết giác), họ Asparagaceae (Măng tây), phân bố chủ yếu ở các khu vực nhiệt đới châu Á, bao gồm Thái Lan, Campuchia, Lào và Việt Nam. Cây thường mọc ở các khu vực rừng thưa, ven suối hoặc vùng đất thấp.[1] Trong y học dân gian, *D. elliptica* được sử dụng để điều trị nhiều loại bệnh như viêm nhiễm, đau nhức và các vấn đề về tiêu hóa. Các nghiên cứu hóa học trước đây đã chỉ ra rằng loài này chứa nhiều hợp chất thứ cấp, bao gồm flavonoid, steroid và các dẫn xuất phenolic, trong đó một số hợp chất thể hiện tiềm năng sinh học như hoạt tính kháng khuẩn, kháng viêm và chống oxy hóa.[1,2] Với tiềm năng ứng dụng cao trong lĩnh vực dược liệu, *D. elliptica* đang thu hút sự quan tâm lớn từ cộng đồng nghiên cứu khoa học nhằm khám phá và phân lập thêm các hợp chất có hoạt tính sinh học. Trong bài báo này, chúng tôi thông báo kết quả phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 8 hợp chất steroid từ rễ của loài *D. elliptica.*

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Mẫu thực vật

Mẫu rễ của loài *Dracaena elliptica* đã được thu hái ở tỉnh Quảng Trị vào tháng 6/2024 và được TS. Nguyễn Thế Cường, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST) giám định. Mẫu tiêu bản (NCXS-13) được lưu giữ tại Viện Hóa sinh biển và Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Sắc ký bản mỏng (TLC) thực hiện trên bản silica gel tráng sẵn $60F_{254}$ (Merck) hoặc bản mỏng pha đảo RP_{18} F_{254} (Merck). Sắc ký cột (CC) được thực hiện trên cột silica gel 230-400 mesh (0,040-0,063 mm, Merck, Đức), Diaion® HP-20 (20-60 mesh, Nhật Bản) và cột pha đảo

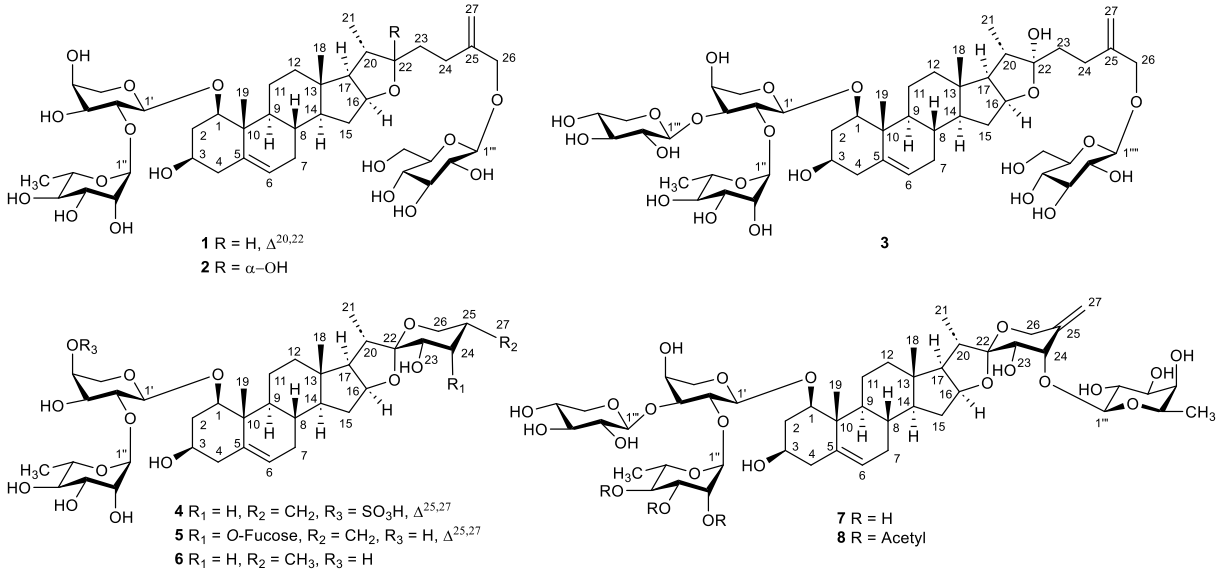
YMC RP-18 resins (150 μm, YMC, Kyoto, Nhật Bản). Sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC được thực hiện trên hệ thống Agilent 1260 infinity II với cột J'sphere ODS-H80 (20×250 mm, 4 μm).

Phổ NMR được đo trên máy Bruker Avance Neo 600 MHz (600 MHz cho phổ ^{1}H và 150 MHz cho ^{13}C-NMR), độ dịch chuyển hóa học (δ) là ppm sử dụng TMS làm chất nội chuẩn. Phổ HR-ESI-MS được đo trên máy Q-TOF LC/MS Agilent 6530 series.

2.3. Tách chiết và phân lập các hợp chất

Mẫu rễ của loài *D. elliptica* sau khi thu về được phơi khô, nghiền thành bột (5,9 kg), sau đó cho vào chiết siêu âm với MeOH 3 lần (mỗi lần 15 L trong 5 h) thu được dịch chiết MeOH. Dịch MeOH được quay dưới áp suất giảm thu được cặn chiết MeOH (DEM, 500 g). Cặn chiết MeOH được phân tán đều trong 4,0 L nước cất, sau đó chiết phân lớp lần lượt với dung môi dichloromethane và ethylacetate theo tỉ lệ 1:1 (v:v) thu được cặn chiết dichloromethane (DED, 110,0 g), cặn ethylacetate (DEE, 31,5 g) và pha nước (DEW).

Cặn chiết DED được phân tách trên cột sắc ký pha thường với hệ dung môi rửa giải gradient dichloromethane/methanol (20/1, 10/1, 5/1, 0/1 v/v) thu được bốn phân đoạn lần lượt là DE1A- DE1D. Tiếp tục tiến hành tách phân đoạn DE1B trên cột sắc ký pha đảo RP-18 với hệ dung môi rửa giải methanol/nước (5/1, v/v) thu được bốn phân đoạn nhỏ hơn được kí hiệu là DE1B1-DE1B4. Sau đó, phân đoạn DE1B1 được tiến hành phân tách trên cột sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC (sử dụng cột J'sphere H-80 250 mm × 20 mm, hệ dung môi rửa giải 50% acetonitrile trong nước, tốc độ dòng 3 mL/phút) thu được hợp chất **1** (12,8 mg, t_R 42,9 phút) và hợp chất **3** (11,4 mg, t_R 50,3 phút). Phân đoạn DE1B2 được tiến hành tách trên cột sắc ký pha thường silica gel với hệ dung môi rửa giải dichloromethane/methanol (8/1, v/v) thu được hợp chất hợp chất **2** (6,4 mg).



Hình 1. Cấu trúc hóa học của các hợp chất **1-8**

Cặn chiết DEE được phân tách trên cột sắc ký pha thường với hệ dung môi rửa giải gradient dichloromethane/methanol (20/1, 10/1, 5/1, 0/1 v/v) thu được bốn phân đoạn lần lượt là DEE2A-DEE2D. Tiếp tục tiến hành tách phân đoạn DE2A trên cột sắc ký pha đảo RP-18 với hệ dung môi rửa giải methanol/nước (4/1, v/v) thu được ba phân đoạn nhỏ hơn được kí hiệu là DE2A1-DE2A3. Hợp chất **5** (6,2 mg, t_R 57,0 phút) thu được từ phân đoạn DE2A1 nhờ phân tách trên cột HPLC (sử dụng cột J'sphere H-80 250 mm × 20 mm, hệ dung môi rửa giải 55% acetonitrile trong nước, tốc độ dòng 3 mL/phút). Phân đoạn DE2A2 được phân lập trên máy HPLC (sử dụng cột J'sphere H-80 250 mm × 20 mm, hệ dung môi rửa giải 50%

acetonitrile trong nước, tốc độ dòng 3 mL/phút) thu được hợp chất **7** (6,1 mg, t_R 59,1 phút). Phân đoạn DE2C (0,8 g) được phân tách trên cột sắc ký pha đảo RP-18 với hệ dung môi rửa giải acetone/nước (3/1, v/v) thu được bốn phân đoạn DE2C1–DE2C4. Hợp chất **8** (9,2 mg) thu được từ phân đoạn DE2C1 thông qua việc phân tách trên cột sắc ký pha thường silica gel với hệ dung môi rửa giải ethyl acetate/methanol/nước (8/1/0,1, v/v/v). Phân đoạn DE2C2 được phân tách trên máy HPLC (sử dụng cột J'sphere H-80 250 mm × 20 mm, hệ dung môi rửa giải 50% acetonitrile trong nước, tốc độ dòng 3 mL/phút) thu được hợp chất **4** (7,1 mg, t_R 45,3 phút). Phân đoạn DE2C3 được phân tách trên máy HPLC (sử dụng cột J'sphere H-80 250 mm × 20 mm, hệ dung môi rửa giải 60% acetonitrile trong nước, tốc độ dòng 3 mL/phút) thu được hợp chất **6** (8,7 mg, t_R 50,1 phút).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** (Hình 1) thu được dưới dạng chất bột vô định hình màu trắng. Các dữ liệu phổ 1D, 2D- NMR của hợp chất **1** gợi ý đây là một furostanol saponin. Phân tích phổ ^{1}H-NMR của hợp chất **1** thấy xuất hiện tín hiệu của 3 nhóm methyl siglet tại δ_H 0,73, 1,12, 1,62 (3H, s, C-18, C-19 và C-21), một proton olefin δ_H 5,58 (d, J = 5,4 Hz, H-6), hai proton của một nhóm *exo*-methylene (δ_H 4,95 (brs) và 5,11 (brs), H_2-27), ba proton oximethine (δ_H 3,36 (m) và 3,38 (m)), ba tín hiệu proton anome đặc trưng cho 3 phân tử đường (δ_H 4,30 (d, J = 7,8 Hz, x2) và 5,31 (d, J = 1,2 Hz)), một nhóm methyl của phân tử đường rhamnopyrano (δ_H 1,27, d, J = 7,0 Hz). Phân tích phổ ^{13}C-NMR và HSQC của hợp chất **1** thấy xuất hiện tín hiệu của 44 nguyên tử cacbon, trong đó bao gồm 27 nguyên tử cacbon đặc trưng cho khung furostanol, 6 carbon đặc trưng cho một đơn vị đường rhamnose (δ_C 101,6, 72,4, 72,2, 74,0, 69,7, 18,4), 6 carbon của một đơn vị đường glucose (δ_C 103,3, 75,1, 78,1, 71,7, 77,9, 62,8) và 5 carbon đặc trưng cho một đơn vị đường arabinopyranose (δ_C 100,9, 75,7, 76,1, 70,8, 67,4) (Bảng 1). Từ những phân tích trên nhận thấy hợp chất **1** là một khung furostanol kết hợp với 3 phân tử đường (1 phân tử đường rhamnose, 1 phân tử đường glucose và 1 phân tử đường arabinopyranose). Tiến hành so sánh dữ liệu phổ của hợp chất **1** với hợp chất đã công bố,[3] thấy tương tự nhau. Cấu trúc của hợp chất **1** được xác định lại thông qua các tương tác HMBC. Trên phổ HMBC nhận thấy có tương tác giữa proton nhóm methyl δ_H 1,12 (H-19) với C-1, C-5, C-9, C-10; giữa proton olefin δ_H 5,56 (H-6) với C-10 và C-4, C-8 cho phép xác định giá trị carbon của hai vòng A và B. Các tương tác HMBC giữa δ_H 0.73 (H-18) với C-12, C-13, C-14, C-17 và giữa δ_H 1,62 (H-21) với C-17, C-20, C-22 tiếp tục xác định được giá trị carbon của ba vòng C, D, E. Tương tác giữa hai proton *exo*-methylene δ_H 4,95 và δ_H 5,11 với C-24, C-25, C-26 cho phép xác định giá trị carbon vùng mạch nhánh. Phân tử đường được xác định đính vào C-26 của mạch nhánh thông qua tương tác HMBC giữa proton anome δ_H 4,30 với C-26 và H-26 với C_{glc}-1. Phân tử đường arabinose được xác định đính tại C-1 của khung và phân tử đường rhamnose đính tại vị trí C-2 của đường arabino lần lượt thông qua các tương tác HMBC giữa δ_H 4,30 (H_{ara}-1) với C-1 và giữa δ_H 5,31 (H_{rha}-1) với C_{ara}-2 (Hình 2). Như vậy, cấu trúc hóa học của hợp chất **1** đã được xác định, 26-*O*-*β*-D-glucopyranosylfurosta-5,20(22),25(27)-triene-l*β*,3*β*,26-triol 1-*O*-{*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*α*-L-arabinopyranoside}, công thức phân tử là $C_{44}H_{68}O_{17}$. Hợp chất này trước đây đã được công bố và phân lập lần đầu tiên từ loài *Nonira recurvata*.[3]

Hợp chất **2** (Hình 1) thu được dưới dạng chất bột vô định hình, màu trắng. Phân tích các dữ liệu phổ 1D và 2D-NMR của hợp chất **2** nhận thấy khá giống với dữ liệu phổ của hợp chất **1** ngoại trừ sự mất đi tín hiệu của một nối đôi tại C-20/C-22. Phân tích phổ ^{13}C-NMR và HSQC của hợp chất **2** thấy xuất hiện tín hiệu 44 carbon trong đó bao gồm 27 carbon của khung furostanol (với sự hiện diện của của 3 nhóm methyl singlet, một nối đôi olefin, một nối đôi *exo,* hai nhóm oximethine) và tín hiệu đặc trưng cho 3 phân tử đường (một phân tử đường rhamnose, một phân tử đường glucose, một phân tử đường arabinopyranose) (Bảng 1). Những phân tích trên cho thấy cấu trúc của hợp chất **2** giống với hợp chất **1** ngoại trừ sự mất đi một

liên kết đôi, thay vào đó là một nhóm hydroxy ở vị trí C-22. Tiếp tục so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất này với hợp chất đã công bố,[4] thấy rất tương đồng. Như vậy, hợp chất **2** được xác định là ruscoponticoside với công thức phân tử $C_{44}H_{70}O_{18}$.

Hợp chất **3** (Hình 1) thu được dưới dạng chất bột vô định hình màu trắng. Phân tích các dữ liệu phổ 1D và 2D-NMR của hợp chất **3** nhận thấy khá giống với dữ liệu phổ của hợp chất **2** ngoại trừ sự bổ sung tín hiệu của một phân tử đường xylopyranose tại δ_C 106,4, 74,8, 77,9, 71,1, 66,9 và δ_H 4,43 (d, *J* = 7,2 Hz), 3,32 (dd, *J* = 7,2, 9,0 Hz), 3,30*, 3,53 (m), 3,22 (dd, *J* = 1,8, 12,0 Hz)/3,85 (dd, *J* = 5,0, 12,0 Hz) (Bảng 1). Các tương tác HMBC giữa δ_H 4,33 (H_{ara}-1) với δ_C 84,8 (C-1), giữa δ_H 5,33 H_{rha}-1 với δ_C 74,4 (C_{ara}-2) và giữa δ_H 4,30 (H_{glc}-1) với δ_C 72,9 (C-26) cho phép xác định chuỗi đường của hợp chất **3** tương tự ở hợp chất **2**. Phân tử đường xylopyranose được xác định đính tại C-3 của phân tử đường arabinose thông qua tương tác HMBC giữa δ_H 4,43 (H_{xyl}-1) với δ_C 85,1 (C_{ara}-3) (Hình 2). Kết hợp so sánh số liệu phổ NMR của hợp chất **3** với hợp chất đã công bố,[5] thấy giống nhau. Như vậy, hợp chất **3** được xác định là 26-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-furosta-5,25(27)-diene-1*β*,3*β*,22*α*,26-tetrol 1-*O*-{*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*O*-[*β*-D-xylopyranosyl(1→3)]-*α*-L-arabinopyranoside}.

Bảng 1. Số liệu phổ NMR của các hợp chất **1-3** đo trong CD_3OD

STT	**1**		**2**		**3**	
	$^a\delta_C$	$^b\delta_H$ (#)	$^a\delta_C$	$^b\delta_H$ (#)	$^a\delta_C$	$^b\delta_H$ (#)
1	84,5	3,38 (m)	84,6	3,38 (m)	84,8	3,38 (m)
2	37,2	1,70 (m)/2,12 (m)	37,2	1,70 (m)/2,12 (m)	37,2	1,72 (m)/2,12 (m)
3	69,2	3,36 (m)	69,2	3,36 (m)	69,2	3,36*
4	43,5	2,22 (m)/2,26 (m)	43,5	2,21 (m)/2,28 (m)	43,4	2,22 (m)/2,28 (m)
5	139,6	-	139,6	-	139,6	-
6	126,0	5,58 (brd, 5,4)	126,0	5,58 (brd, 6,0)	126,0	5,58 (brd, 6,0)
7	32,9	1,54 (m)/1,98 (m)	32,7	1,54 (m)/1,98 (m)	32,7	1,54 (m)/1,97 (m)
8	33,9	1,54 (m)	34,1	1,56 (m)	34,1	1,56 (m)
9	51,5	1,25 (m)	51,5	1,25 (m)	51,5	1,25*
10	44,0	-	43,5	-	43,4	-
11	25,0	1,49 (dd, 14,4, 3,0) 2,58 (dd, 14,4, 3,0)	24,8	1,49 (dd, 14,4, 3,0) 2,58 (dd, 14,4, 3,0)	24,8	1,47 (m)/2,45 (m)
12	41,1	1,31 (m)/1,74 (m)	41,3	1,23 (m)/1,70 (m)	41,2	1,25 (m)/1,71 (m)
13	43,4	-	41,5	-	41,5	-
14	56,5	1,04 (m)	57,9	1,16 (m)	57,9	1,16 (m)
15	35,3	1,42 (m)/2,17 (m)	33,1	1,29 (m)/1,98 (m)	33,1	1,30 (m)/1,98 (m)
16	85,7	4,73 (m)	82,4	4,58 (m)	82,4	4,59 (m)
17	65,8	2,49 (d, 10,2)	64,3	1,78 (dd, 6,6, 8,4)	64,3	1,78*
18	14,9	0,73 (s)	17,2	0,87 (s)	17,2	0,86 (s)
19	15,3	1,12 (s)	15,3	1,12 (s)	15,3	1,12 (s)
20	105,7	-	41,0	2,15 (m)	41,0	2,15 (m)
21	11,9	1,62 (s)	15,9	1,04 (s)	15,9	1,04 (d, 7,2)
22	152,1	-	111,6	-	111,6	-
23	31,6	2,27 (m)/2,29 (m)	37,9	1,83 (m)/1,90 (m)	37,9	1,83 (m)/1,90 (m)
24	25,3	2,28 (m)	28,5	2,28-2,32 (m)	38,6	2,27 (m)/2,33 (m)

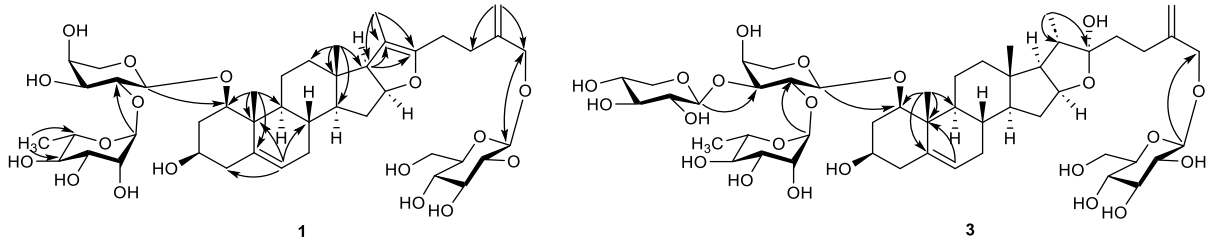
STT	1		2		3	
	[a]δ_C	[b]δ_H[#]	[a]δ_C	[b]δ_H[#]	[a]δ_C	[b]δ_H[#]
25	146,6	-	147,3	-	147,4	-
26	72,5	4,12 (d, 12,0) 4,34 (d, 12,0)	72,9	4,14 (d, 12,6) 4,35 (d, 12,6)	72,9	4,14 (d, 12,6) 4,35 (d, 12,6)
27	112,9	5,11 (brs)/4,95 (brs)	112,2	5,11 (brs)/4,95 (brs)	112,2	4,95 (s)/5,10 (s)
1'	100,9	4,30 (d, 7,8)	101,0	4,29 (d, 7,8)	101,1	4,33 (d, 7,2)
2'	75,7	3,72 (m)	75,6	3,71 (m)	74,4	3,84 (m)
3'	76,1	3,65 (m)	76,1	3,65 (m)	85,1	3,75 (dd, 9,6, 3,6)
4'	70,8	3,76 (brs)	70,8	3,76 (brs)	70,4	3,98 (m)
5'	67,4	3,87 (dd, 12,0, 1,8) 3,50 (dd, 12,0, 1,2)	67,4	3,87 (dd, 12,0, 1,8) 3,52 (dd, 12,0, 1,2)	66,9	3,52 (dd, 12,0, 1,2) 3,89 (dd, 12,0, 3,0)
1''	101,6	5,31 (d, 1,2)	101,6	5,31 (d, 1,2)	101,6	5,33 (d, 1,2)
2''	72,4	3,90 (m)	72,4	3,90 (m)	72,3	3,92 (dd, 3,0, 1,2)
3''	72,2	3,70 (m)	72,1	3,70 (m)	72,0	3,72 (dd, 9,0, 3,0)
4''	74,0	3,40 (m)	74,2	3,40 (m)	74,2	3,42(m)
5''	69,7	4,09 (m)	69,7	4,10 (m)	69,8	4,09 (m)
6''	18,4	1,27 (d, 7,0)	18,4	1,26 (d, 6,0)	18,5	1,27 (d, 6,6)
1'''	103,3	4,30 (d, 7,8)	103,3	4,31 (d, 7,8)	106,4	4,43 (d, 7,2)
2'''	75,1	3,23 (dd, 7,8, 9,0)	75,2	3,24 (dd, 7,8, 9,0)	74,8	3,32 (dd, 7,2, 9,0)
3'''	78,1	3,37 (m)	77,9	3,27 (m)	77,9	3,30*
4'''	71,7	3,30 (m)	71,7	3,30 (m)	71,1	3,53 (m)
5'''	77,9	3,26 (m)	78,1	3,36 (m)	66,9	3,22 (dd,1,8, 12,0) 3,85 (dd, 5,0, 12,0)
6'''	62,8	3,88 (m)/3,69 (m)	62,8	3,88 (m)/3,68 (m)		
1''''					103,3	4,30 (d, 7,8)
2''''					75,2	3,24 (dd, 7,8, 9,0)
3''''					78,0	3,27 (dd, 9,0, 9,0)
4''''					71,7	3,30*
5''''					78,1	3,37 (m)
6''''					62,8	3,68 (dd, 5,4, 12,0) 3,88 (dd, 2,4, 12,0)

[a)]150 MHz, [b)]600 MHz, [#](độ bội, Hz) *tín hiệu trùng lấp.

Hợp chất **4** (Hình 1) thu được dưới dạng chất bột vô định hình, màu trắng. Phân tích ^{1}H-NMR của hợp chất **4** thấy xuất hiện tín hiệu của 3 nhóm methyl siglet tại δ_H 0,91, 0,94 và 1,12, 2 nhóm methyl doublet tại δ_H 1,27 (d, J = 6,0 Hz), 0,98 (d, J = 7,0 Hz), một nối đôi olefin (δ_H 5,58, brd, J = 6,0 Hz), một nối đôi *exo*-olefin tại δ_H 4,75 (s) và 4,79 (s), 2 proton anome của hai phân tử đường tại δ_H 4,34 (d, J = 7,8 Hz) và 5,29 (d, J = 1,2 Hz). Phân tích phổ ^{13}C-NMR và HSQC của hợp chất này thấy xuất hiện tín hiệu của 38 nguyên tử carbon

(bao gồm 5 carbon bậc bốn, 4 methyl, 10 methylene, 19 methine) trong đó 27 carbon của khung và 11 carbon của 2 phân tử đường (Bảng 2). Từ những phân tích trên nhận thấy các dữ liệu phổ của hợp chất **4** khá tương đồng với số liệu của hợp chất **1** ngoại trừ sự thay đổi ở vùng mạch nhánh từ C-23 (δ_C 34,0), C-24 (δ_C 29,5) và C-26 (δ_C 65,8) ở hợp chất **4** so với C-23 (δ_C 31,6), C-24 (δ_C 25,3) và C-26 (δ_C 72,5) ở hợp chất **1**. Kết hợp với tương tác HMBC giữa proton *exo*-olefin δ_H 4,75, 4,79 (H_2-27) với C-24, C-25, C-26, giữa proton δ_H 3,84, 4,28 (H_2-26) với C-24, C-22, giữa H-24 với C-22 cho phép khẳng định sự có mặt của vòng spiros. So sánh dữ liệu phổ của hợp chất **4** với số liệu phổ các hợp chất khung spirostan có phần nhánh đóng vòng nhận thấy hợp chất **4** tương tự với hợp chất namonin C,[6] với phần khung là spirosta và hai phân tử đường gồm một đường arabinose và một đường rhamnose. Cấu trúc hóa học của hợp chất này được khẳng định lại thông qua các tương tác trên phổ HMBC. Cụ thể, các tương tác HMBC giữa δ_H 5,29 (H_{rha}-1) với δ_C 75,9 (C_{ara}-2') và giữa δ_H 4,34 (H_{ara}-1') với δ_C 69,2 (C-3) cho phép xác định phân tử đường rhamnose đính vào C-2 của đường arabinose và chuỗi đường tiếp tục đính tại vị trí C-3 của khung. Bên cạnh đó, sự khác biệt ở giá trị carbon ở vị trí C-4' của phân tử đường arabinose so với tài liệu tham khảo gợi ý sự có mặt của nhóm hidro sunfat.[7] Như vậy, hợp chất **4** đã được xác định là spirosta-5,25(27)-diene-1*β*,3*β*-diol 1-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*O*-{4-sulfo-*α*-L-arabinopyranoside}, có công thức phân tử là $C_{38}H_{58}O_{17}S$.

Hợp chất **5** và hợp chất **6** (Hình 1) đều phân lập được dưới dạng bột vô định hình màu trắng. Phân tích số liệu phổ 1D và 2D-NMR của hai hợp chất này thấy đều tương đồng với hợp chất **4**. Khác biệt ở hợp chất **5** là có thêm sự xuất hiện của 1 phân tử đường fuctose với bộ số liệu tại δ_C 105,9, 71,9, 76,1, 73,1, 72,1 và 16,6 và hợp chất **5** không còn nhóm hidro sunphat (Bảng 2). Tín hiệu trên phổ HMBC cho thấy tương tác giữa H_{fuc}-1''' (δ_H 4,39) với C-24 cho phép xác định đường fuctose đính vào vị trí C-24 của khung (Hình 3). So sánh tài liệu tham khảo,[6] hợp chất **5** được xác định là namonin C, với công thức phân tử là $C_{44}H_{68}O_{18}$. Còn đối với hợp chất **6**, khác biệt lớn nhất so với hợp chất **4** là sự mất đi tín hiệu của proton *exo*-olefin, thay vào đó là sự xuất hiện tín hiệu của 1 nhóm methyl doublet tại δ_H 0,81 (d, J = 7,0 Hz), bên cạnh đó, giống như hợp chất **5**, hợp chất **6** cũng ko có tín hiệu của nhóm hidro sunphat (Bảng 2). Từ các dữ liệu đó, kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo,[8] khẳng định hợp chất **6** có tên là alliospiroside A, công thức phân tử là $C_{38}H_{60}O_{12}$.



Hình 2. Các tương tác HMBC quan trọng của hợp chất **1** và **3**

Hợp chất **7** (Hình 1) thu được dưới dạng chất bột vô định hình màu trắng. Từ các dữ liệu phổ 1D và 2D-NMR của hai hợp chất này đều cho thấy các tín hiệu tương tự với tín hiệu phổ của hợp chất **5** ngoại trừ sự xuất hiện thêm tín hiệu của một phân tử đường xyllose tại δ_C 106,4, 74,8, 77,9, 71,1, 66,9 và δ_H 4,39 (d, J = 7,8 Hz), 3,55 (m), 3,65 (dd, J = 9,0 Hz, J = 3,6 Hz), 3,57*, 3,70 (m) (Bảng 3). Tương tác HMBC giữa proton anome δ_H 4,39 với δ_C 85,2 (C_{ara}-3') cho phép xác định phân tử đường xyllose đính tại C-3' của phân tử đường arabinose (Hình 3). Tiến hành so sánh dữ liệu phổ của hợp chất **7** với hợp chất đã công bố thấy giống nhau. Như vậy, cấu trúc hóa học của hợp chất **7** đã được xác định, có tên gọi là recurvoside C.[9] Hợp chất này có công thức phân tử là $C_{49}H_{76}O_{22}$. Hợp chất **8** (Hình 1) thu được dưới dạng chất bột vô định hình màu trắng. Từ những phân tích phổ 1D và 2D NMR của hợp chất **8** có thể dự đoán cấu trúc hóa học của hợp chất này tương tự với cấu trúc hóa học của hợp chất **7** ngoại

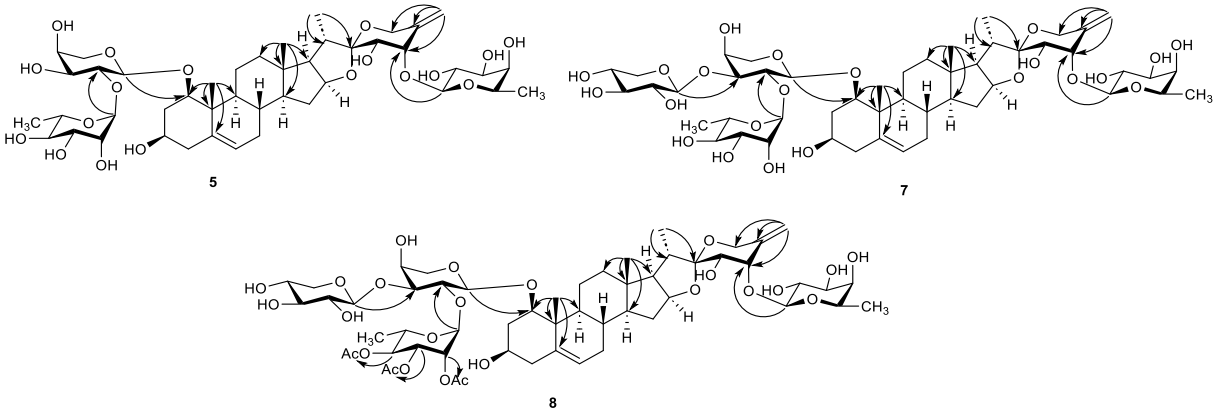
trừ sự xuất hiện thêm ba nhóm acetoxy tại δ_C 172,1 và δ_H 20,8/δ_H 2,14, tại δ_C 171,9 và δ_C 20,8/δ_H 2,08 và tại δ_C 171,8 và δ_H 20,7/δ_H 1,95 (Bảng 3). Các tương tác HMBC giữa δ_H 5,34 (H_{rha}-2) với δ_C 172,1, giữa δ_H 3,60 (H_{rha}-3) với δ_C 171,9, giữa δ_H 3,42 (H_{rha}-4) với δ_C 171,8 cho phép xác định các vị trí C-2, C-3 và C-4 của phân tử đường rhamnose đã bị acetyl hóa (Hình 3). So sánh số liệu phổ NMR của hợp chất **8** với số liệu của hợp chất dự đoán đã công bố,[3] thấy tương tự nhau. Như vậy, cấu trúc của hợp chất **8** đã được xác đinh, (23*S*,24*S*)-1-*O*-{*O*-(2,3,4-*O*-triacetyl-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*O*-[*β*-*D*-xylopyranosyl.

Bảng 2. Số liệu phổ NMR của các hợp chất **4-6** đo trong CD_3OD

STT	**4**		**5**		**6**	
	$^a\delta_C$	$^b\delta_H$ (#)	$^a\delta_C$	$^b\delta_H$ (#)	$^a\delta_C$	$^b\delta_H$ (#)
1	84,7	3,38 (m)	84,7	3,40 (m)	84,6	3,38 (m)
2	37,2	1,67 (m)/2,14 (m)	37,3	1,70 (m)/2,12 (m)	37,3	1,68 (m)/2,12 (m)
3	69,2	3,37*	69,2	3,37 (m)	69,2	3,37 (m)
4	43,5	2,22(m)/2,28 (m)	43,5	2,23 (m)/2,28 (m)	43,5	2,20 (m)/2,28 (m)
5	139,6	-	139,7	-	139,6	-
6	126,0	5,58 (brd, 6,0)	126,0	5,58 (brd, 5,4)	126,0	5,58 (brd, 5,4)
7	32,8	1,55 (m)/1,97 (m)	32,8	1,56 (m)/1,98 (m)	32,7	1,30 (m)/1,54 (m)
8	34,2	1,56 (m)	34,0	1,57 (m)	34,1	1,55 (m)
9	51,5	1,24*	51,5	1,26 (m)	51,5	1,24 (m)
10	43,5	-	43,5	-	43,5	-
11	24,7	1,44 (m)/2,44 (m)	24,7	1,46(m)/2,56 (m)	24,8	1,45 (dd, 14,0, 3,0) 2,57 (dd, 14,0, 3,0)
12	41,1	1,23 (m)/1,69 (m)	41,5	1,25 (m)/1,70 (m)	41,3	1,22 (m)/1,68 (m)
13	41,2	-	41,6	-	41,1	-
14	57,9	1,18 (m)	58,0	1,18 (m)	58,0	1,16 (m)
15	33,0	1,32 (m)/1,98 (m)	33,0	1,45 (m)/1,98 (m)	32,9	1,55 (m)/1,98 (m)
16	82,5	4,46 (m)	83,8	4,51 (m)	82,2	4,40 (m)
17	64,0	1,78*	62,6	1,72 (m)	64,0	1,74 (m)
18	17,1	0,85 (s)	17,2	0,91 (d, 7,2)	17,1	0,83 (s)
19	15,3	1,12 (s)	15,3	1,12 (s)	14,9	1,12 (s)
20	42,9	1,95 (m)	38,2	2,57 (m)	42,9	1,92 (m)
21	14,9	0,98 (d, 7,0)	14,7	0,94 (d, 7,2)	15,3	0,98 (d, 7,0)
22	110,7	-	112,3	-	110,6	-
23	34,0	1,72 (m)/1,78 (m)	70,8	3,52 (m)	32,5	1,58 (m)/1,73 (m)
24	29,5	2,24 (m)/2,56 (m)	83,6	4,32 (d, 3,6)	30,0	1,44 (m)/1,63 (m)
25	145,3	-	144,6	-	31,5	1,61 (m)
26	65,8	3,84 (d, 12,0) 4,28 (d, 12,0)	62,1	3,73*/4,47 (d, 12,0)	67,8	3,33 (m)/3,45 (m)
27	108,9	4,75 (s) 4,79 (s)	114,0	5,01 (d, 1,8) 5,09 (d, 1,8)	17,5	0,81 (d, 7,0)
1'	100,7	4,34 (d, 7,8)	101,0	4,29 (d, 7,2)	101,0	4,29 (d, 7,8)
2'	75,9	3,68 (m)	75,6	3,72 (m)	75,7	3,72 (m)
3'	74,9	3,80 (dd, 9,6, 3,6)	75,0	3,48 (m)	76,1	3,65 (dd, 9,0, 3,0)
4'	77,6	4,54 (m)	70,8	3,76 (brs)	70,8	3,75 (brs)
5'	65,3	3,56 (dd, 12,0, 1,2) 4,20 (dd, 12,0, 3,0)	67,5	3,88*/3,48*	67,4	3,87 (d, 12,6) 3,50 (d, 12,6)
1"	101,5	5,29 (d, 1,2)	101,6	5,31 (d, 1,8)	101,6	5,31 (s)

STT	4		5		6	
	$^a\delta_C$	$^b\delta_H$ (#)	$^a\delta_C$	$^b\delta_H$ (#)	$^a\delta_C$	$^b\delta_H$ (#)
2"	72,3	3,91 (m)	72,4	3,90*	72,4	3,89 (d, 3,0)
3"	72,1	3,72 (dd, 9,0, 3,0)	72,7	3,60 (m)	72,2	3,70 (m)
4"	74,1	3,42 (m)	74,2	3,42 (m)	74,2	3,40 (m)
5"	69,9	4,07 (m)	69,7	4,10 (m)	69,7	4,10 (m)
6"	18,3	1,27 (d, 6,0)	18,4	1,27 (d, 6,0)	18,4	1,28 (d, 6,6)
1'''			105,9	4,39 (d, 7,8)		
2'''			71,9	3,55 (m)		
3'''			76,1	3,65 (dd, 9,0, 3,6)		
4'''			73,1	3,57*		
5'''			72,1	3,70 (m)		
6'''			16,6	1,21 (d, 6,0)		

[a)]150 MHz, [b)]600 MHz, [#](độ bội, Hz), *tín hiệu trùng lấp, (-) không đo được giá trị.



Hình 3. Các tương tác HMBC quan trọng của hợp chất **5**, **7** và **8**

Bảng 3. Số liệu phổ NMR của các hợp chất **7** và **8** đo trong CD_3OD

STT	7		STT	8	
	$^a\delta_C$	$^b\delta_H$ (#)		$^a\delta_C$	$^b\delta_H$ (#)
1	84,7	3,40 (m)	1	84,5	3,47 (m)
2	37,3	1,70 (m)/2,12 (m)	2	37,4	1,72 (m)/2,22 (m)
3	69,2	3,37 (m)	3	69,0	3,44 (m)
4	43,5	2,23 (m)/2,28 (m)	4	43,2	2,24 (m) - 2,26 (m)
5	139,6	-	5	139,4	-
6	126,0	5,58 (brd, 5,4)	6	126,1	5,60 (brd, 6,0)
7	32,7	1,56 (m)/1,98 (m)	7	32,7	1,56 (m)/1,98 (m)
8	34,1	1,57 (m)	8	34,0	1,58 (m)
9	51,4	1,26 (m)	9	51,3	1,28 (m)
10	43,5	-	10	43,4	-
11	25,0	1,46(m)/2,56 (m)	11	24,9	1,45 (m)/2,54 (m)
12	41,5	1,25 (m)/1,70 (m)	12	41,4	1,27 (m)/1,69 (m)
13	41,6	-	13	41,6	-
14	58,0	1,18 (m)	14	57,9	1,17 (m)
15	33,0	1,45 (m)/1,98 (m)	15	33,0	1,43 (m)/1,98 (m)
16	83,7	4,51 (m)	16	83,8	4,53 (m)
17	62,6	1,72 (m)	17	62,5	1,72 (m)

STT	7		STT	8	
	$^{a}\delta_C$	$^{b}\delta_H$ (#)		$^{a}\delta_C$	$^{b}\delta_H$ (#)
18	17,2	0,91 (d, 7,2)	18	17,2	0,90 (s)
19	15,3	1,12 (s)	19	15,3	1,11 (s)
20	38,2	2,57 (m)	20	38,2	2,58 (m)
21	14,6	0,94 (d, 7,2)	21	14,7	0,94 (d, 6,6)
22	112,2	-	22	112,3	-
23	70,8	3,52 (m)	23	70,6	3,52 (m)
24	83,6	4,32 (d, 3,6)	24	83,6	4,32 (d, 4,2)
25	144,7	-	25	144,6	-
26	62,1	3,73*/ 4,47 (d, 12,0)	26	62,1	3,73(d, 12,0)/4,47 (d, 12,0)
27	113,9	5,01 (d, 1,8)/5,09 (d, 1,8)	27	114,0	5,01 (br s)/5,96 (br s)
1'	101,1	4,29 (d, 7,2)	1'	100,7	4,40 (d, 6,6)
2'	74,4	3,72 (m)	2'	73,4	3,90 (m)
3'	85,2	3,48 (m)	3'	85,1	3,82 (dd, 9,0, 3,0)
4'	70,4	3,76 (brs)	4'	70,4	3,39 (brs)
5'	66,9	3,88*/3,48*	5'	67,3	3,55 (m)/3,48 (m)
1''	101,6	5,31 (d, 1,8)	1''	98,3	5,62 (d, 1,8)
2''	72,3	3,90*	2''	70,7	5,34 (dd, 3,6, 1,8)
3''	72,0	3,60 (m)	3''	71,1	3,60 (m)
4''	74,2	3,42 (m)	4''	72,5	3,42 (m)
5''	69,8	4,10 (m)	5''	67,1	4,10 (m)
6''	18,5	1,27 (d, 6,0)	6''	18,3	1,27 (d, 6,0)
1'''	106,4	4,39 (d, 7,8)	2''-OAc	172,1	-
2'''	74,8	3,55 (m)		20,8	2,14 (s)
3'''	77,9	3,65 (dd, 9,0, 3,6)	3''-OAc	171,9	-
4'''	71,1	3,57*		20,8	2,08 (s)
5'''	66,9	3,70 (m)	4''-OAc	171,8	-
1''''	105,9	4,38 (d, 7,8)		20,7	1,95 (s)
2''''	73,1	3,57 (dd, 7,8, 9,0)	1'''	106,5	4,38 (d, 7,8)
3''''	75,1	3,49 (dd, 3,0, 9,0)	2'''	74,7	3,23 (m)
4''''	72,7	3,59 (m)	3'''	77,9	3,29 (t, 9,0)
5''''	71,9	3,55 (m)	4'''	71,1	3,48 (m)
6''''	16,6	1,21 (d, 6,0)	5'''	67,0	3,22 (m)/3,85 (m)
			1''''	105,9	4,39 (d, 7,8)
			2''''	73,1	3,57 (dd, 7,8, 9,0)
			3''''	75,0	3,50 (dd, 3,0, 9,0)
			4''''	72,7	3,59 (m)
			5''''	71,9	3,55 (m)
			6''''	17,2	1,21 (d, 6,0)

[a)]150 MHz, [b)]600 MHz, [#](mult., *J* in Hz) *tín hiệu trùng lấp.

4. KẾT LUẬN

Từ rễ loài *Dracaena angustifolia* đã phân lập và xác định cấu trúc 8 hợp chất steroid là 26-*O*-*β*-D-glucopyranosylfurosta-5,20(22),25(27)-triene-l*β*,3*β*,26-triol 1-*O*-{*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*α*-L-arabinopyranoside} (**1**), ruscoponticoside (**2**), 26-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-furosta-5,25(27)-diene-1*β*,3*β*,22*α*,26-tetrol 1-*O*-{*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*O*-[*β*-D-xylopyranosyl(1→3)]-*α*-L-arabinopyranoside} (**3**), spirosta-5,25(27)-diene-

1*β*,3*β*-diol 1-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*O*-{4-sulfo-*α*-L-arabinopyranoside} (**4**), namonin C (**5**), alliospiroside A (**6**), recurvoside C (**7**), (23*S*,24*S*)-1-*O*-{*O*-(2,3,4-*O*-triacetyl-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*O*-[*β*-*D*-xylopyranosyl (**8**).

Lời cảm ơn. Công trình này được hoàn thành với sự tài trợ kinh phí từ nhiệm vụ Phát triển nhóm nghiên cứu xuất sắc tại Viện Hàn lâm KHCNVN, mã số NCXS01.02/22-24.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. J. Sun, J. -N. Liu, B. Fan, X. -N. Chen, D. -R. Pang, J. Zheng, Q. Zhang, Y. -F. Zhao, W. Xiao, P. -F. Tu, Y. -L. Song, J. Li. Phenolic constituents, pharmacological activities, quality control, and metabolism of *Dracaena* species: A review, *J. Ethnopharmacol.*, **2019**, *244*, 112138.
2. Y. Liu, X. Zhao, R. Yao, C. Li, Z. Zhang, Y. Xu, J.-H. Wei. Dragon's blood from dracaena worldwide: Species, traditional uses, phytochemistry and pharmacology, *Am. J. Chin. Med.*, **2021**, *49*, 1315-1367.
3. Y. Mimaki, Y. Takaashi, M. Kuroda, Y. Sashida, T. Nikaido. Steroidal saponins from *Nolina recurvata* stems and their inhibitory activity on cyclic AMP phosphodiesterase, *Phytochemistry*, **1996**, *42*, 1609-1615.
4. S. De Marino, C. Festa, F. Zollo, M. Iorizzi. Novel steroidal components from the underground parts of *Ruscus aculeatus* L., *Molecules*, **2012**, *17*, 14002-14014.
5. A. Perrone, T. Muzashvili, A. Napolitano, A. Skhirtladze, E. Kemertelidze, C. Pizza, S. Piacente. Steroidal glycosides from the leaves of *Ruscus colchicus*: Isolation and structural elucidation based on a preliminary liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry profiling, *Phytochemistry*, **2009**, *70*, 2078-2088.
6. Q. L. Tran, Y. Tezuka, A. H. Banskota, Q. K. Tran, I. Saiki, S. Kadota. New spirostanol steroids and steroidal saponins from roots and rhizomes of *Dracaena angustifolia* and their antiproliferative activity, *J. Nat. Prod.*, **2001**, *64*, 1127-1132.
7. Y. Mimaki, M. Kuroda, A. Kameyama, A. Yokosuka, Y. Sashida. New steroidal constituents of the underground parts of *Ruscus aculeatus* and their cytostatic activity on HL-60 cells, *Chem. Pharm. Bull.*, **1998**, *46*, 298-303.
8. S. D. Kravets, Y. S. Vollerner, M. B. Gorovits, A. S. Shashkov, N. K. Abubakirov. Steroids of the spirostan and furostan series from plants of the genus *Allium*. XXI. Structure of alliospiroside A and alliofuroside A from *Allium cepa*, *Chem. Nat. Comp.*, **1986**, *22*, 174-181.
9. Y. Takaashi, Y. Mimaki, M. Kuroda, Y. Sashida, T. Nikaido, T. Ohmoto. Recurvosides A - E, new polyhydroxylated steroidal saponins from *Nolina recurvata* stems, *Tetrahedron*, **1995**, *51*, 2281-2292.

Liên hệ: **Phan Văn Kiệm**
Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: phankiem@yahoo.com.

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC TỪ RỄ LOÀI SÂM BỐ CHÍNH *Abelmoschus sagittifolius*

Nguyễn Huy Hoàng, Đỗ Thị Trang, Dương Thị Dung, Phạm Hải Yến, Bùi Hữu Tài, Nguyễn Xuân Nhiệm, Phan Văn Kiệm*

Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

Mười hợp chất được phân lập từ cặn methanol của rễ loài sâm bố chính *Abelmoschus sagittifolius*. Cấu trúc hóa học của chúng được xác định là 2*β*,3,7-trihydroxycalamenen 3-*O*-*β*-D-glucoside (**1**), 7*β*-*O*-*β*-glucopyranosyl bombaxone (**2**), acyl hibiscone B (**3**), hibiscone B (**4**), tryptophan (**5**), methyl (3*R*)-3-[(3*R*)-3-{(3*R*)-3-hydroxybutanoyloxy}butanoyloxy] butanoate (**6**), 4-ketopinoresinol (**7**), N-*trans*-feruloyl tyramine (**8**), *α*-dimorphecolic acid (**9**), matairesinol 4-*O*-*β*-D-glucopyranoside (**10**) dựa trên phân tích dữ liệu phổ cộng hưởng từ hạt nhân kết hợp so sánh với các dữ liệu đã được công bố. Hàm lượng hợp chất acyl hibiscone B (**3**) được xác định là 9,59×10-3% khối lượng dược liệu khô (0,0959 mg/g dược liệu khô) bằng phương pháp HPLC-DAD.

1. GIỚI THIỆU

Sâm bố chính *Abelmoschus sagittifolius* thuộc họ Malvaceae, được sử dụng rộng rãi làm thuốc dân gian và một loại thực phẩm ăn được ở đảo Hải Nam của Trung Quốc và các nước Đông Nam Á[1] và được sử dụng cho điều trị bệnh lao, ho, táo bón, suy nhược thần kinh, nhọt sưng tấy độc, chóng mặt, đau thắt lưng và đau dạ dày.[1] Các nghiên cứu về thành phần hóa học loài *A. sagittifolius* chỉ ra sự có mặt của các thành phần chính là sesquiterpenoid,[1,2] lignan,[1] phenolic[1] và amide.[1] Trong bài báo này, chúng tôi thông báo kết quả phân lập, xác định cấu trúc hóa học 10 hợp chất và phân tích định lượng hợp chất acyl hibiscone B từ rễ loài *A. sagittifolius.*

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Mẫu thực vật

Rễ củ loài sâm bố chính *Abelmoschus sagittifolius*, được thu hái tại tỉnh Quảng Trị vào tháng 6 năm 2024 và được tiến sĩ Nguyễn Thế Cường, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam giám định. Tiêu bản mẫu (NCXS-15) được lưu trữ tại Phòng Nghiên cứu cấu trúc, Viện Hóa sinh biển.

2.2. Phương pháp tách chiết

Sắc ký lớp mỏng (TLC) được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F254 và RP18 F254s (Merck, Đức). Các vết chất được phát hiện bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm hoặc dùng thuốc thử là dungdịch H_2SO_4 10% phun đều lên bản mỏng rồi sấy ở nhiệt độ cao cho đến khi hiện màu.

Sắc ký cột (CC) được tiến hành với chất hấp phụ pha thường (Silica gel 240-430 mesh, Merck) hoặc pha đảo (ODS 150 µm, YMC, Nhật Bản). Nhựa trao đổi ion Diaion HP-20 (Misubishi Chem. Ind. Co., Ltd.).

Sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC được thực hiện trên hệ thống Agilent 1260 infinity II với cột J'sphere ODS-H80 (250 × 20 mm L.D) và cột Hydrosphere C-18 (150 × 4,6 mm L.D).

2.3. Phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân

Phổ NMR được đo bằng máy quang phổ Bruker AM600 FT-NMR (600 MHz cho ^{1}H-NMR và 150 MHz cho ^{13}C-NMR) và máy quang phổ Bruker AM500 FT-NMR (500 MHz cho ^{1}H-NMR và 125 MHz cho ^{13}C-NMR) của Viện Hóa học.

2.4. Phương pháp phân tích định lượng

Phương pháp HPLC-DAD được thực hiện trên hệ thống Agilent 1260 infinity II với cột Hydrosphere C-18 (150 × 4,6 mm L.D).

2.5. Phân lập các hợp chất

Mẫu rễ của loài *A. sagittifolius* sau khi thu về được phơi khô, nghiền thành bột (5,8 kg), sau đó cho vào chiết siêu âm với MeOH 3 lần (mỗi lần 15 L trong 3 h) thu được dịch chiết MeOH. Dịch MeOH được quay dưới áp suất giảm thu được cặn chiết MeOH (ASM, 500 g). Tiếp tục hòa tan cặn chiết MeOH với 4,0 L nước cất, sau đó chiết phân lớp lần lượt với dung môi dichloromethane và ethyl acetate theo tỷ lệ 1:1 (v:v) thu được cặn dichloromethane (ASD, 110,0 g), cặn ethyl acetate (ASE 31,5 g) và pha nước (ASW). Pha nước ASW được cho hấp phụ lên cột Diaion HP-20 sau đó được rửa bằng nước cất để loại bỏ đường, muối và các tạp chất, tiếp tục được rửa giải với nồng độ methanol trong nước tăng dần (25% và 100%) thu được hai phân đoạn lần lượt là AS3A và AS3B. Phân đoạn AS3B (32,0 g) được phân tách trên cột pha thường với hệ dung môi rửa giải gradient dichloromethane/methanol (1/0 → 0/1, v/v) thu được ba phân đoạn nhỏ hơn AS3B1-AS3B3. Tiếp tục tiến hành tách phân đoạn AS3B3 trên cột sắc ký pha đảo RP-18 với hệ dung môi rửa giải MeOH/water (1/3, v/v) thu được bốn phân đoạn nhỏ hơn được kí hiệu là AS3B3A-AS3B3D. Hợp chất **1** (106,6 mg, t_R 30,2 phút) và hợp chất **2** (25,1 mg, t_R 41,3 phút) thu được sau khi phân tách phân đoạn AS3B3D trên hệ thống máy HPLC (sử dụng cột J'sphere H-80 250 × 20 mm, hệ dung môi rửa giải 25% acetonitrile trong nước, tốc độ dòng 3 mL/phút). Phân đoạn AS3B3B được phân tách trên hệ thống máy HPLC (sử dụng cột J'sphere H-80 250 × 20 mm, hệ dung môi rửa giải 13% acetonitrile trong nước, tốc độ dòng 3 mL/phút) thu được hợp chất **5** (5,2 mg, t_R 29,3 phút). Cặn chiết ASE được phân tách trên cột sắc ký pha thường với hệ dung môi rửa giải gradient dichloromethane/methanol (20/1, 10/1, 5/1, 0/1 v/v) thu được bốn phân đoạn lần lượt là AS2A - AS2D. Phân đoạn AS2C được phân tách trên cột sắc ký pha đảo RP-18 với hệ dung môi rửa giải acetone/water (2/1, v/v) thu được bốn phân đoạn AS2C1 - AS2C4. Hợp chất **6** (8,7 mg, t_R 53,1 phút) và hợp chất **7** (9,4 mg, t_R 68,0 phút) thu được từ phân đoạn AS2C1 sau khi phân tách trên hệ thống máy HPLC (sử dụng cột J'sphere H-80 250 × 20 mm, hệ dung môi rửa giải 35 % acetonitrile trong nước, tốc độ dòng 3 mL/phút). Phân đoạn AS2C3 được phân tách trên hệ thống máy HPLC (sử dụng cột J'sphere H-80 250 × 20 mm, hệ dung môi rửa giải 50% acetonitrile trong nước, tốc độ dòng 3 mL/phút) thu được hợp chất **3** (23.1 mg, t_R 65,8 phút). Tiếp tục tiến hành tách phân đoạn AS2A trên cột sắc ký pha đảo RP-18 với hệ dung môi rửa giải methanol/water (4/1, v/v) thu được ba phân đoạn nhỏ hơn được kí hiệu là AS2A1 - AS2A3. Hợp chất **8** (18,2 mg, t_R 39,3 phút) thu được từ phân đoạn AS2A1 sau khi phân tách trên hệ thống máy HPLC (sử dụng cột J'sphere H-80 250 × 20 mm, hệ dung môi rửa giải 40 % acetonitrile trong nước, tốc độ dòng 3 mL/min). Cặn chiết ASD được phân tách trên cột sắc ký pha thường với hệ dung môi rửa giải gradient dichloromethane /methanol (20/1, 10/1, 5/1, 0/1 v/v) thu được bốn phân đoạn lần lượt là AS1A- AS1D. Tiếp tục tiến hành tách phân đoạn AS1B trên cột sắc ký pha đảo RP-18 với hệ dung môi rửa giải MeOH/water (5/1, v/v) thu được bốn phân đoạn nhỏ hơn được kí hiệu là AS1B1-AS1B4. Sau đó, phân đoạn AS1B2 được tiến hành phân tách trên cột sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC (sử dụng cột J'sphere H-80 250 × 20 mm, hệ dung môi rửa giải 70% acetonitrile trong nước, tốc

độ dòng 3 mL/phút) thu được hợp chất **9** (11,1 mg, t_R 56,1 phút). Phân đoạn AS1B3 được phân tách trên cột sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC (sử dụng cột J'sphere H-80 250 × 20 mm, hệ dung môi rửa giải 70% acetonitrile trong nước, tốc độ dòng 3 mL/phút) thu được hợp chất **4** (56,2 mg, t_R 46,4 phút). Tiếp tục phân tách phân đoạn AS1B4 được tách trên hệ thống máy HPLC (sử dụng cột J'sphere H-80 250 × 20 mm, hệ dung môi rửa giải 95 % acetonitrile trong nước, tốc độ dòng 3 mL/min) thu được hợp chất **10** (12,8 mg, t_R 54,2 phút).

2.6. Xây dựng đường chuẩn và định lượng hợp chất Acyl hibiscone B

Mẫu rễ loài sâm bố chính *A. sagittifolius* sử dụng trong quá trình định lượng được xử lí theo quy trình khá phổ biến đối với hầu hết các dược liệu, bao gồm: thái lát, phơi khô tự nhiên rồi nghiền nhỏ đến kích thước < 3 mm. Lựa chọn kỹ thuật chiết siêu âm để giảm thời gian xử lí mẫu. Cân chính xác 10 g mẫu, chiết siêu âm 3 lần với 50 mL methanol trong bình tam giác 100 mL, gộp dịch chiết 3 lần, cô quay chân không đến khoảng 10 mL. Chuyển hết dịch sau cô quay vào bình định mức 25 mL rồi định mức đến vạch bằng methanol. Dùng xi lanh hút dịch chiết từ bình định mức 25 mL bơm qua màng lọc mẫu có kích thước 0,45 µm. Dịch lọc được chuyển vào lọ chứa mẫu rồi đưa vào hệ thống HPLC.

Lựa chọn hợp chất acyl hibiscone B (**3**) làm hợp chất marker, hợp chất này được phân lập với lượng lớn hơn để sử dụng làm chất tham chiếu và phân tích hàm lượng. Sau khi khảo sát một số cột sắc ký, bước sóng hấp thụ, loại dung môi, tỷ lệ dung môi, tốc độ dòng, thể tích bơm mẫu, điều kiện sắc ký thích hợp đã được lựa chọn:

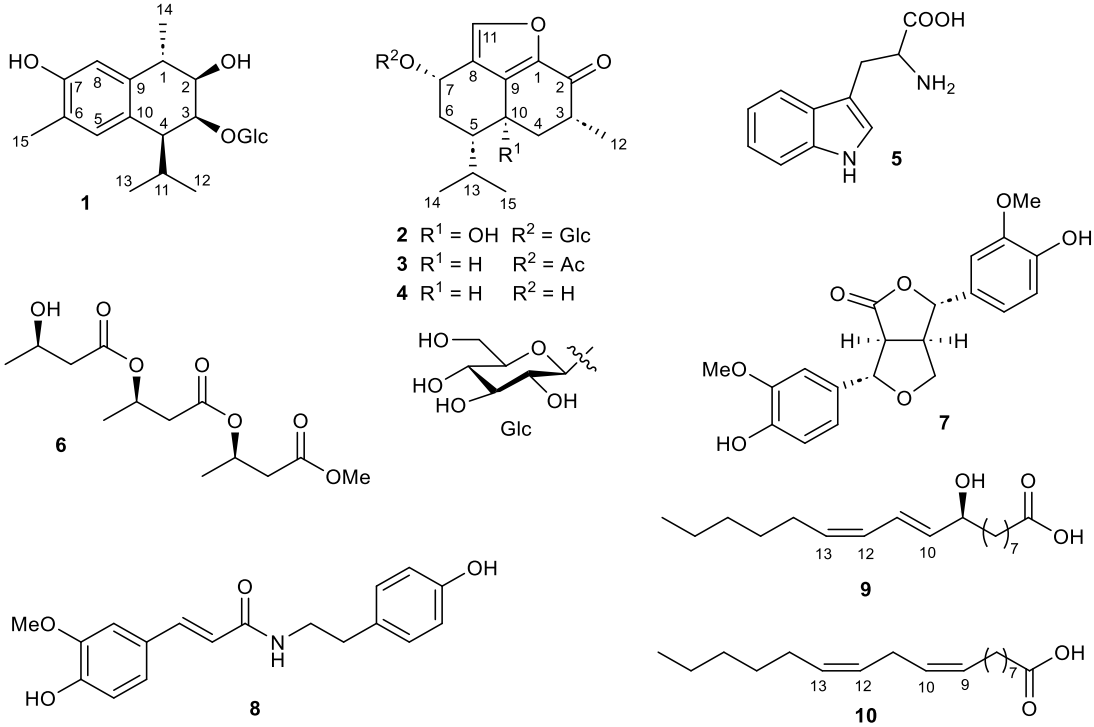
Cột tách sắc ký: cột Hydrosphere C18 (150 × 4,6 mm, 5 µm);

Bước sóng hấp thụ: 275 nm;

Tốc độ dòng: 1 mL/phút;

Thể tích bơm mẫu: 10 μL;

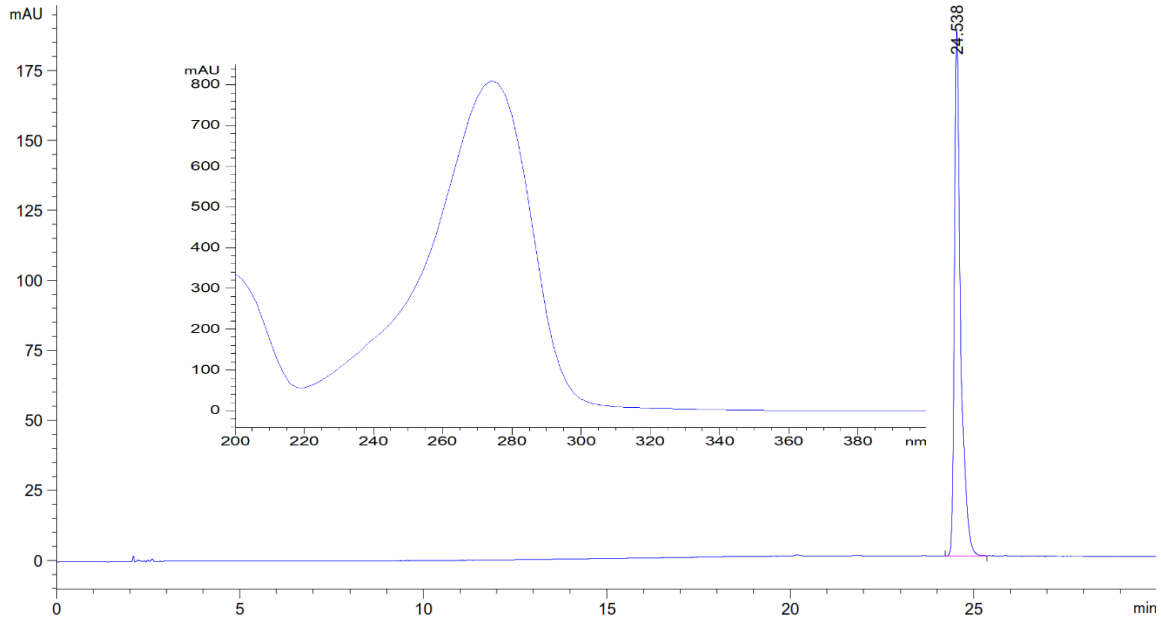
Thành phần pha động: ACN - nước, chạy hệ gradient như sau: dung môi 5% ACN trong 5 phút (0-5 phút) và tăng dần đến 100% ACN trong 45 phút (5-50 phút).



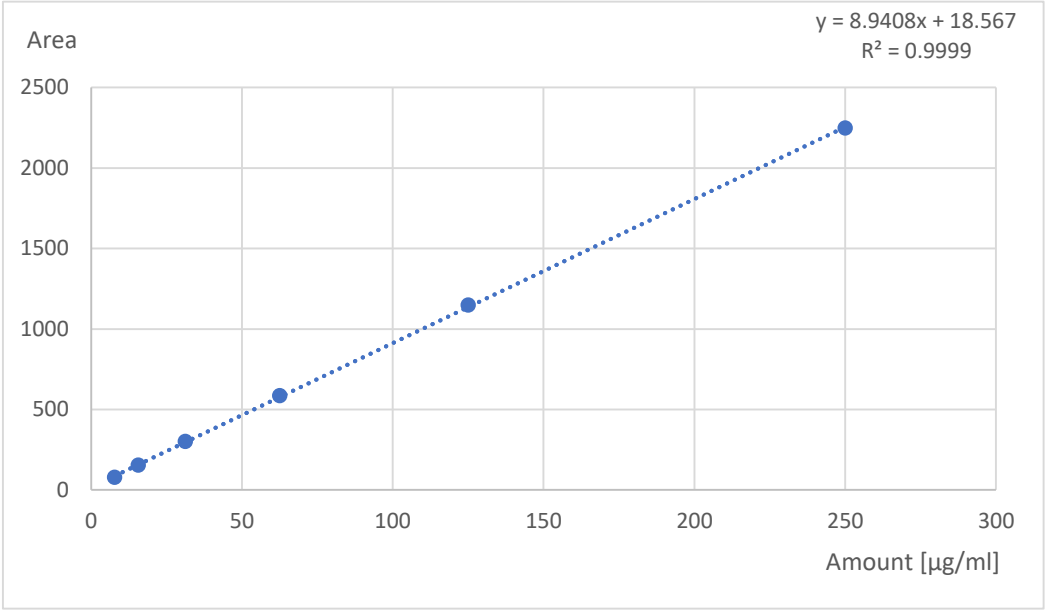
Hình 1. Cấu trúc hóa học của các hợp chất **1-10**

Hợp chất acyl hibiscone B (**3**) đã được kiểm tra và độ tinh khiết cần thiết pha dung dịch gốc có nồng độ 2.000 µg/mL. Từ dung dịch này, lấy chính xác các lượng thể tích khác nhau, pha thành các dung dịch có nồng độ giảm dần 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL, 15,625 µg/mL, 7,8125 µg/mL. Phương trình đường chuẩn được xác định là Y = 8,9408X + 18,567 (R^2 = 0,9999) tại bước sóng 275 nm. Giá trị LOQ là 4,1619 µg/mL nhỏ hơn giá trị nồng độ nhỏ nhất của đường chuẩn chứng tỏ phương pháp định tính và định lượng đã thiết lập có độ nhạy cao. Do đó, đường chuẩn phân tích đã thiết lập đảm bảo độ tin cậy và được sử dụng nhằm định lượng các hợp chất trong mẫu rễ sâm bố chính.

Kết quả xác định tính chọn lọc của phương pháp, xác định độ lặp của phương pháp có độ lệch chuẩn tương đối là 0,4109 %, với độ tái lặp là 0,6455%, xác định độ đúng có độ thu hồi ở nồng độ 3,90625 µg/mL là 90,59 %. Tất cả các giá trị trên đều nằm trong khoảng cho phép theo tiêu chuẩn AOAC[3] do đó phương pháp phân tích hàm lượng này đảm bảo độ tin cậy, tính chính xác cao.



Hình 2. Giản đồ UV và thời gian lưu của hợp chất **3** tại bước sóng 275 nm



Hình 3. Đường chuẩn định lượng hợp chất **3** tại bước sóng 275 nm

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

2*β*,3,7-trihydroxycalamenen 3-*O*-*β*-D-glucoside (1): Chất bột vô định hình, màu trắng; ^{1}H-NMR (CD_3OD, 500 MHz) và ^{13}C-NMR (CD_3OD, 125 MHz), xem Bảng 1.

7*β*-*O*-*β*-glucopyranosyl bombaxone (2): Chất bột vô định hình, màu trắng; ^{1}H-NMR (CD_3OD, 500 MHz) và ^{13}C-NMR (CD_3OD, 125 MHz), xem Bảng 1.

Acyl hibiscone B (3): Chất bột vô định hình, màu trắng; ^{1}H-NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C-NMR (CD_3OD, 150 MHz) (Bảng 1).

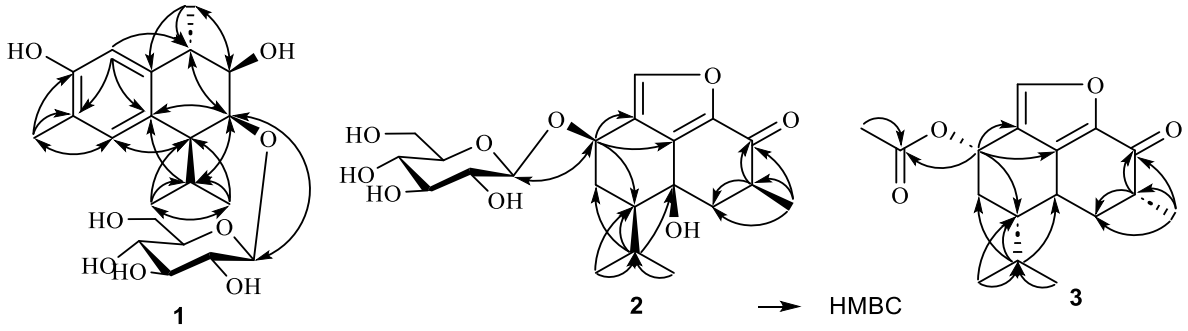
Hợp chất **1** thu được dưới dạng chất bột vô định hình, màu trắng. Phân tích phổ ^{1}H-NMR của hợp chất **1** thấy xuất hiện tín hiệu của bốn nhóm methyl tại δ_H 0,97 (d, J = 6,5 Hz, H-12), 1,01 (d, J = 6,5 Hz, H-13), 1,42 (d, J = 7,0 Hz, H-14) và 2,15 (s, H-15); bảy proton methin tại độ chuyển dịch hóa học δ_H 1,76 (m, H-11), 2,77 (dd, J = 2,5, 7,5 Hz, H-4), 2,79 (m, H-1), 3,61 (dd, J = 2,0, 9,5 Hz, H-2), 4,18 (t, J = 2,5 Hz, H-3), 6,69 (s, H-8), 6,83 (s, H-5), và tín hiệu proton anome tại δ_H 4,35 (d, J = 7,5 Hz, H-1′). Tiếp tục phân tích phổ ^{13}C-NMR, HSQC của hợp chất **1** cho thấy tín hiệu của 21 carbon trong đó bao gồm: 4 carbon methyl tại δ_C 15,9 (C-15), 18,8 (C-14), 21,0 (C-12), 22,2 (C-13); bảy carbon methin tại δ_C 34,1 (C-11), 38,2 (C-1), 51,8 (C-4), 73,5 (C-2), 81,4 (C-3), 113,8 (C-8), 133,5 (C-5), bốn carbon bậc bốn tại δ_C 123,0 (C-6), 128,0 (C-10), 139,7 (C-9), 154,9 (C-7) và 6 carbon đặc trưng cho một đơn vị đường glucopyranosid tại δ_C 62,6 (C-6′), 71,5 (C-4′), 74,5 (C-2′), 77,8 (C-3′), 78,0 (C-5′) và 103,8 (C-1′). Cấu trúc của hợp chất **1** được khẳng định lại thông qua phân tích phổ HSQC và HMBC. Các tương tác HMBC giữa methyl H-14 (δ_H 1,42) với C-1 (δ_C 38,2)/C-2 (δ_C 73,5)/ C-9 (δ_C 139,7) cho phép xác định vị trí của nhóm methyl tại C-1 và nhóm hydroxy tại C-2, Tương tác HMBC giữa H-15 (δ_H 2,15) với C-5 (δ_C 133,5), C-6 (δ_C 123,0) và C-7 (δ_C 154,9) cho phép xác định nhóm methyl tại C-6 và nhóm hydroxy tại C-7. Tương tác HMBC giữa H-12 (δ_H 0,97) và H-13 (δ_H 1,01) với C-11 (δ_C 34,1), C-4 (δ_C 51,8) cho phép xác định vị trí của nhóm isopropyl tại C-4, Cuối cùng, tương tác HMBC giữa H-1′ (δ_H 4,35) với δ_C 81,4 (C-3) gợi ý vị trí của đơn vị đường glucose tại C-3. Từ những phân tích trên nhận thấy hợp chất **1** là một sesquiterpenoid kết hợp so sánh giá trị NMR của hợp chất **1** với giá trị phổ NMR của hợp chất 2*β*,3,7-trihydroxycalamenen 3-*O*-*β*-D-glucoside thấy tương tự nhau.[1] Từ đó, có thể dự đoán hợp chất **1** là 2*β*,7,3-trihydroxycalamenen 3-*O*-*β*-D-glucoside. Mặc dù phổ NMR của hợp chất **1** đo được giống hoàn toàn với tài liệu tham khảo (đo trong cùng dung môi CD_3OD). Tuy nhiên cấu hình tại C-3 của cadinane vẫn chưa được xác định. Hằng số tương tác lớn giữa H-1 và H-2, J = 9,5 Hz đã gợi ý cấu hình của nhóm hydroxyl tại C-2 định hướng equatorial. Hằng số tương tác nhỏ giữa H-3 và H-2/H-4 (J = 2,5 Hz) đã chứng minh cấu hình của nhóm oxygen tại C-3 là axial. Vì thế cấu trúc của hợp chất **1** được xác định là 2*β*,3,7-trihydroxycalamenen 3-*O*-*β*-D-glucoside.[1]

Bảng 1. Dữ liệu NMR của hợp chất **1** - **3** đo trong CD_3OD

STT	**1**		**2**		**3**	
	$^{a}\delta_C$	$^{b}\delta_H$ (#)	$^{a}\delta_C$	$^{b}\delta_H$ (#)	$^{c}\delta_C$	$^{d}\delta_H$ (#)
1	38,2	2,79 (m)	144,5	-	143,7	-
2	73,5	3,61 (dd, 2,0, 9,5)	191,5	-	188,8	-
3	81,4	4,18 (dd, 2,5, 2,5)	44,0	2,76 (m)	42,7	2,74 (m)
4	51,8	2,78 (dd, 2,5, 7,5)	43,1	2,22 (m) 2,41 (dd, 1,0, 14,5)	36,5	2,13 (ddd, 12,0, 4,8, 2,4) 1,87 (ddd, 12,0, 12,0, 4,8)
5	133,5	6,83 (s)	46,4	1,78 (dt, 2,0, 12,5)	30,6	2,79 (ddd, 12,0, 12,0,

STT	1		2		3	
	[a]δ_C	[b]δ_H[#]	[a]δ_C	[b]δ_H[#]	[c]δ_C	[d]δ_H[#]
						4,8)
6	123,0	-	26,1	2,07 (dt, 2,0, 15,0) 2,25 (m)	29,8	2,06 (dd, 12,0, 1,8) 1,69 (ddd, 12,0, 12,0, 4,2)
7	154,9	-	68,7	5,07 (d, 4,0)	63,6	5,81 (dd, 4,2, 1,8)
8	113,8	6,69 (s)	124,7	-	122,0	-
9	139,7	-	144,9	-	142,9	-
10	128,0	-	69,4	-	40,8	1,64 (m)
11	34,1	1,76 (m)	150,3	7,99 (s)	147,4	7,67 (s)
12	21,0	0,97 (d, 6,5)	21,0	1,56 (d, 6,5)	16,1	1,31 (d, 7,2)
13	22,2	1,01 (d, 6,5)	26,5	2,26 (m)	26,5	2,05 (m)
14	18,8	1,42 (d, 7,0)	24,2	1,03 (d, 6,5)	21,0	1,03 (d, 7,2)
15	15,9	2,15 (s)	19,0	1,06 (d, 6,5)	15,8	0,91 (d, 7,2)
1′					171,0	-
2′					21,2	2,03 (s)
3-*O*-Glucose			**7-*O*-Glucose**			
1′	103,8	4,35 (d, 7,5)	103,4	4,56 (d, 7,5)		
2′	74,5	3,13 (dd, 7,5, 9,0)	75,0	3,15 (dd, 7,5, 9,0)		
3′	77,8	3,35 (t, 9,0)	78,1	3,40 (t, 9,0)		
4′	71,5	3,30 (t, 9,0)	71,7	3,30 (t, 9,0)		
5′	78,0	3,35 (m)	78,0	3,38 (m)		
6′	62,6	3,68 (dd, 5,5, 11,5) 3,91 (dd, 2,0, 11,5)	62,8	3,71 (dd, 6,5, 12,0) 3,96 (dd, 2,5, 12,0)		

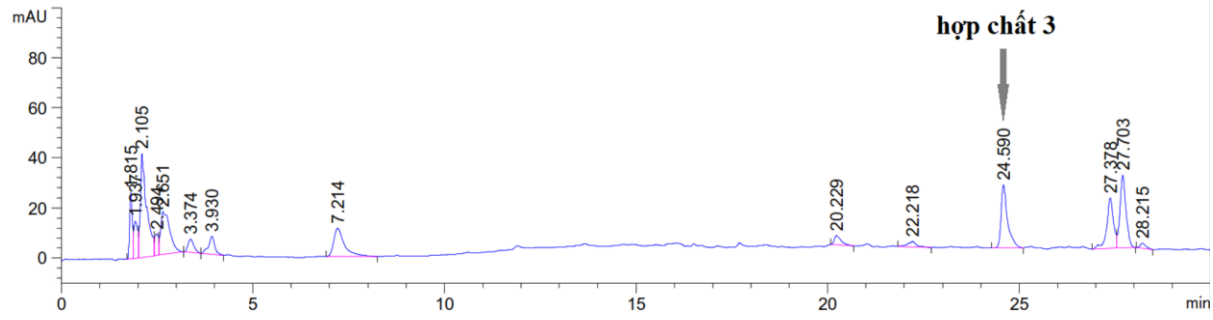
[a)]125 MHz, [b)]500 MHz, [c)]150 MHz, [d)]600 MHz. [#](mult., *J* in Hz).



Hình 4. Các tương tác HMBC chính của hợp chất **1**-**3**

Hợp chất **2** thu được chất bột vô định hình, màu trắng. Trên phổ proton ^{1}H-NMR của **2** thấy xuất hiện tín hiệu của một proton olefin tại δ_H 7,99 (s, H-11), một proton oxymethine tại δ_H 5,07 (d, J = 4,0 Hz, H-7), tín hiệu proton của ba nhóm methyl dạng doublet tại δ_H 1,03 (d, J = 6,5 Hz, H-14), 1,06 (d, J = 6,5 Hz, H-15) và 1,56 (d, J = 6,5 Hz, H-12), một proton anome tại δ_H 4,56 (d, J = 7,5 Hz, H-1′). Phân tích phổ ^{13}C-NMR và HSQC của hợp chất **2** nhận thấy tín hiệu của 21 carbon trong đó bao gồm: một carbon carbonyl δ_C 191,5 (C-15), bốn carbon không liên kết trực tiếp với hydro δ_C 69,4 (C-10), 124,7 (C-8), 144,5 (C-1) và 144,9 (C-9),

một carbon hydroxymethine δ_C 68,7 (C-7), bốn carbon methine δ_C 26,5 (C-13), 44,0 (C-3), 46,4 (C-5) và 150,3 (C-11), hai carbon methylene δ_C 26,1 (C-6) và 43,1 (C-4), ba carbon methyl δ_C 19,0 (C-15), 21,0 (C-12), và 24,2 (C-14) và 6 carbon của một phân tử đường glucopyranosyl tại δ_C 103,4 (C-1′), 78,1 (C-3′), 78,0 (C-5′), 75,0 (C-2′), 71,7 (C-4′), 62,8 (C-6′). Các dữ liệu trên phổ ^{1}H và ^{13}C-NMR của hợp chất **2** giống như của hợp chất 7*β*-*O*-*β*-glucopyranosyl bombaxone.[4] Cấu trúc của hợp chất **2** được khẳng định lại thông qua phân tích phổ HSQC và HMBC. Tương tác HMBC giữa methyl H-12 (δ_H 1,56) với C-3 (δ_C 44,0)/ C-2 (δ_C 191,5)/ C-4 (δ_C 43,1) cho phép xác định vị trí của nhóm methyl tại C-3. Tương tác HMBC giữa H-14 (δ_H 1,03) và H-15 (δ_H 1,06) với C-13 (δ_C 26,5), C-5 (δ_C 46,4) cho phép xác định vị trí của nhóm isopropyl tại C-5, Cuối cùng, tương tác HMBC giữa H-1′ (δ_H 4,56) với C-7 (δ_C 68,7) gợi ý vị trí của đơn vị đường glucose tại C-7. Từ những phân tích trên kết hợp so sánh giá trị NMR của hợp chất **2** với giá trị phổ NMR của hợp chất 7*β*-*O*-*β*-glucopyranosyl bombaxone thấy tương tự nhau. Như vậy, có thể kết luận hợp chất **2** là 7*β*-*O*-*β*-glucopyranosyl bombaxone.[4]



Hình 5. Sắc ký đồ cặn chiết methanol của rễ loài sâm bố chính ở bước sóng 275 nm

Hợp chất **3** thu được chất bột vô định hình, màu trắng. Trên phổ proton ^{1}H-NMR của **3** thấy xuất hiện tín hiệu của một proton olefin tại δ_H 7,67 (s, H-11), một proton oxymethine tại δ_H 5,81 (dd, J = 4,2 1,8 Hz, H-7), tín hiệu proton của bốn nhóm methyl tại δ_H 0,91 (d, J = 7,2 Hz, H-15), 1,03 (d, J = 7,2 Hz, H-14), 1,31 (d, J = 7,2 Hz, H-12) và 2,03 (s, H-2′). Phân tích phổ ^{13}C-NMR và HSQC của hợp chất **3** nhận thấy tín hiệu của 17 carbon trong đó bao gồm: hai carbon carbonyl tại δ_C 188,8 (C-2) và 171,0 (C-1′), ba carbon không liên kết trực tiếp với hydro δ_C 122,0 (C-8), 142,9 (C-9) và 143,7 (C-1), một carbon hydroxymethine δ_C 63,6 (C-7), năm carbon methine δ_C 26,5 (C-13), 30,6 (C-10), 40,8 (C-5), 42,7 (C-3) và 147,4 (C-11), hai carbon methylene δ_C 29,8 (C-6) và 36,5 (C-4) và bốn carbon methyl δ_C 15,8 (C-15), 16,1 (C-12), 21,0 (C-14) và 21,2 (C-2′). Cấu trúc của hợp chất **3** được khẳng định lại thông qua phân tích phổ HSQC và HMBC. Tương tác HMBC giữa methyl H-12 (δ_H 1,31) với C-2 (δ_C 188,8)/ C-3 (δ_C 42,7)/C-4 (δ_C 36,5) cho phép xác định vị trí của nhóm methyl tại C-3. Tương tác HMBC giữa H-14 (δ_H 1,03) và H-15 (δ_H 0,91) với C-13 (δ_C 26,5), C-5 (δ_C 40,8) cho phép xác định vị trí của nhóm isopropyl tại C-5. Cuối cùng, tương tác HMBC giữa H-7 (δ_H 5,81) với C-1′ (δ_C 170,2) và độ dịch chuyển hóa học của C-7 là 63,6 cho phép xác định nhóm acetyl được gắn với khung tại vị trí C-7 thông qua cầu oxy. Từ những phân tích trên, nhận thấy cấu trúc của hợp chất **3** giống của hợp chất acyl hibiscone B.[2] Như vậy, hợp chất **3** được xác định là acyl hibiscone B.

Các hợp chất **4**-**10** được xác định là hibiscone B (**4**),[5] tryptophan (**5**),[6] methyl (3*R*)-3-[(3*R*)-3-{(3*R*)-3-Hydroxybutanoyloxy}butanoyloxy] Butanoate (**6**),[7] 4-ketopinoresinol (**7**) [8], N-*trans*-feruloyl tyramine (**8**),[9] *α*-dimorphecolic acid (**9**),[10] matairesinol 4-*O*-*β*-D-glucopyranoside (**10**).[11] Dữ liệu NMR của các hợp chất này trùng khớp với dữ liệu đã công bố trong tài liệu.

Dựa vào phương trình đường chuẩn xác định được hàm lượng hợp chất acyl hibiscone B trong mẫu dược liệu khô là $9{,}59\times10^{-3}$ % (0,0959 mg/g dược liệu khô).

4. KẾT LUẬN

Từ rễ loài sâm bố chính *Abelmoschus sagittifolius* đã phân lập và xác định cấu trúc 10 hợp chất là 2*β*,3,7-trihydroxycalamenen 3-*O*-*β*-D-glucoside (**1**), 7*β*-*O*-*β*-glucopyranosyl bombaxone (**2**), Acyl hibiscone B (**3**), hibiscone B (**4**), tryptophan (**5**), methyl (3*R*)-3-[(3*R*)-3-{(3*R*)-3-Hydroxybutanoyloxy}butanoyloxy] Butanoate (**6**), 4-ketopinoresinol (**7**), N-*trans*-feruloyl tyramine (**8**), *α*-dimorphecolic acid (**9**), matairesinol 4-*O*-*β*-D-glucopyranoside (**10**). Phân tích định lượng hợp chất acyl hibiscone B (**3**) bằng phương pháp HPLC-DAD. Hợp chất acyl hibiscone B có hàm lượng $9{,}59\times10^{-3}$ % khối lượng dược liệu khô (0,0959 mg/g dược liệu khô).

Lời cảm ơn. Công trình này được hoàn thành với sự tài trợ kinh phí từ nhiệm vụ Phát triển nhóm nghiên cứu xuất sắc tại Viện Hàn lâm KHCNVN, mã số NCXS01.02/22-24.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. D. L. Chen, G. Li, Y. Y. Liu, G. X. Ma, W. Zheng, X. B. Sun, X. D. Xu. A new cadinane sesquiterpenoid glucoside with cytotoxicity from *Abelmoschus sagittifolius*, *Nat. Prod. Res.*, **2018**, *33*, 1-6.
2. D. L. Chen, Z. Xiaopo, G. X. Ma, H. Wu, J. S. Yang, X. D. Xu. A new sesquiterpenoid quinone with cytotoxicity from *Abelmoschus sagittifolius*. *Nat. Prod. Res.*, **2015**, *30*, 1-5.
3. AOAC official methods of analysis **2013**. AOAC guidelines for single-laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals.
4. L. Xuan, X. Zhang, S. Zhang. Three New Furanosesquiterpenoids from *Bombax malabaricum* and revised NMR assignment of hibiscone C, *Heterocycles,* **2008**, *75*, 661-668.
5. P. Roth, A. Armaly, I. McCraw, J. Tryon, H. Rudd, B. Goess. Total synthesis of (±)-hibiscone B and (±)-acyl hibiscone B. *Tetrahedron Lett.*, **2018**, *59*, 3586-3588.
6. J. Tian, Y. Yin, H. Sun, X. Luo. Magnesium chloride: an efficient ^{13}C NMR relaxation agent for amino acids and some carboxylic acids, *J. Magn. Res.*, **2002**, *159*, 137-144.
7. J. Li, J. Uzawa, Y. Doi. Conformational analysis of oligomers of (*R*)-3-hydroxybutanoic acid in solutions by ^{1}H NMR spectroscopy, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2006**, *71*, 1683-1689.
8. S. S. Moon, A. Rahman, J. Y. Kim, S. H. Kee. Hanultarin, a cytotoxic lignan as an inhibitor of actin cytoskeleton polymerization from the seeds of *Trichosanthes kirilowii*, *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, *16*, 7264-7269.
9. J. Ma, S. H. Jones, S. M. Hecht. Phenolic acid amides: a new type of DNA strand scission agent from *Piper caninum*, *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, *12*, 3885-3889.
10. S. Naidu, P. Gupta, P. Kumar. Enantioselective syntheses of (-)-pinellic acid, *α*- and *β*-dimorphecolic acid, *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 7624-7633.
11. R. Marwah, M. Fatope, M. Deadman, M. Al Maqbali, J. Husband. Musanahol: A new aureonitol related metabolite from a *Chaetomium* sp., *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 8174-8180.

Liên hệ: **Phan Văn Kiệm**
Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: phankiem@yahoo.com.

FABRICATION OF ELECTROSPUN NANOFIBERS CONTAINING ACTIVE INGREDIENTS DIOSMETIN AND SILVER NANOPARTICLES USING DRAGON FRUIT EXTRACT AS REDUCING AGENT

Anh Khoa Ton[1], Hoang Bao Ngoc Pham[2], Thi Kim Chi Huynh[1], Hoang Phuc Nguyen[1], Thi Cam Thu Nguyen[1], Thi Hong An Nguyen[1], Xuan Ngoc Nguyen[1], Thi Kim Dung Hoang[1*]

[1]Institute of Chemical Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, No. 1A, TL29 Street, Thanh Loc ward, District 12, Ho Chi Minh City, Vietnam

[2]Ton Duc Thang University, 19 Nguyen Huu Tho Street, Tan Phong ward, District 7, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 10 Feb 2025; Revised 20 Feb 2025; Accepted 1 Mar 2025

Abstract

The research has investigated the potential of diosmetin at the nanoscale to improve its bioavailability and the extract of Dragon fruit body as a reducing and stabilizing agent for the synthesis of silver nanoparticles because of their excellent antibacterial activity. The synthesis of nanosilver is carried out by the green chemistry method, using natural plant extract because it is without any health risks to produce the nanoscale particles with an average particle size of 6.19±2.02 nm. The electrospinning technique was used to create nanofibers containing diosmetin and silver nanoparticles. The morphology of P14E2Ag1DT0.1 is characterized by scanning electron microscopy (SEM) to achieve a fine, uniform, non-granular fiber with a uniform diameter of about 254.3±112.9 nm. Furthermore, it has an outstanding antibacterial ability of about 60.24% for *Pseudomonas aeruginosa* compared with 18.03%, 25.00% of Diosmetin, P14E2Ag1, respectively. Regarding *Staphylococcus aureus*, the antibacterial rate obtained 71.15% compared with 26.92%, 38.92% of Diosmetin, P14E2Ag1, respectively. This study has proved that the electrospinning-supported nanofiber containing diosmetin and silver nanoparticles has the potential to improve the water solubility of hydrophobic drugs and antibacterial application.

1. INTRODUCTION

Diosmetin is a flanovoid aglycon from the glycoside diosmin which originates from plants such as citrus fruits, olive leaves, marjoram and other plant resources.[1] Pharmacologically, diosmetin has benefits in antibacterial, antioxidant, anti-inflammation and anticancer such as colorectal cancer, breast cancer, skin cancer, and prostate cancer. In particular, diosmin/diosmetin also supports the treatment of chronic venous insufficiency which is a member of cardiovascular disorders.[2] However, diosmetin is water insoluble which hampers its absorption at the gastrointestinal tract (GT) leading to the limitations in the food and pharmaceutical industry, therefore, it is essential to bring diosmetin to the nanoscale to improve its bioavailability. Many efforts were made to improve its water solubility such as phytosome[1] and PVA/CMC electrospun.[3]

Electrospinning is a versatile method to create nanoscale fibers that contain either hydrophobic or hydrophilic drugs.[3] Generally, it uses an electric field to control the deposition of polymer fibers onto a certain substrate. In this method, a high voltage for a polymer solution induces a charge chain on the droplet. The charge jets are ejected when the electric intensity is present enough in the solution's hemispherical surface, which is stretched out and

forms the Taylor cone later. Immediately, the nanofiber appeared and evaporated most solvents before sticking to the aluminum collector. Nanofibers have the high surface area to volume ratio, high productivity, high porosity and high mechanical properties involving the spinning of natural and synthetic polymers together. Previous studies have improved the water solubility of diosmin by electrospinning of Hydroxypropyl Cellulose/PVA/Polyethylenoxide. They showed the positive data to dissolve the hydrophobic drug at pH 7.8 while the *in vivo* experiment gave the higher initial drug plasma levels after administration compared with micronized form.[4] On the other hand, the materials targeted to this technology can be collagen,[5] poly(ethylene oxide) and poly(oxymethylene).[6] PVA (polyvinyl alcohol) is a synthetic and semicrystalline polymer that possesses multi-hydroxyl groups, high mechanical performance, high tensile strength and flexibility. Moreover, PVA is water solubility, good thermal stability, biocompatibility, chemical resistance and biodegradability with many biomedical applications such as tissue engineering, drug delivery systems, gas sensors etc. Moreover, PVA is water solubility, good thermal stability, chemical resistance, biocompatibility and biodegradability with many biomedical applications such as tissue engineering, drug delivery systems, gas sensors, etc. The electrospun PVA nanofibers will not, at body or room temperature, quickly dissolve and leach into water or culture media.[7]

Concerning silver nanoparticles, it is an ideal candidate for antibacterial, antifungal and wound healing prospects.[8,9] By using suitable reducing agents, silver ions will be reduced to become silver nanoparticles, and the capping agents will be bound to their surface to maintain stabilization during long-term storage and future uses. However, the utilization of these chemical reductants such as borohydride, hydrazine, etc. and capping agents such as CTAB leads to awareness about the environment and biological safety, so other green, safe, and sustainable reductants are being intensively exploited.[10] In this regard, plant extracts are being exploited because plenty of flavonoids, polyphenols, tannins, amino acids, polysaccharides, and saponins, etc. can act as chemical reductants without using any harmful chemicals. For instance, research was done to synthesize pectin/silver nanocomposite to obtain the 6.62 nm particles with maximum UV-Vis peak at 380 nm and shifted to higher wavelengths at 400 nm and 410 nm owing to bigger size. They stated that the silver nanoparticles show the LSPR band from 380-450 nm which corresponds to the particles smaller than 60 nm.[10]

In this research, we have synthesized the silver nanoparticles by Dragon fruit extract. Simultaneously, the mixture of Polyvinyl alcohol (PVA) and the Dragon fruit extract will be chosen to create the nanofiber by electrospinning technology to carry the diosmetin and silver nanoparticles for topical wound healing.

2. EXPERIMENTAL

2.1. Chemicals

Acid acetic (Xilong, China), Acid gallic (Biobasic, USA), Acetone (Xilong, China), Silver nitrate (99%, Merck), Chloroform (Xilong, China), Ethanol (Xilong, China), Methanol (Xilong, China), Polyvinyl alcohol (M.W. = 85,000-124,000 g/mol, 99+% hydrolyzed), DMSO (99.9%, Fisher Chemical) and double distilled water.

For antibacterial evaluation, Tryptic Soy Broth, Mueller Hinton Agar, Mueller Hinton Broth were purchased from Himedia.

Diosmetin and the extract of Dragon fruit were synthesized by the Lab of the Organic Synthesis and Polymer Technology, Ho Chi Minh Institute of Chemical Technology, Vietnam Academy of Science and Technology.

2.2. Synthesis of Silver Nanoparticles by Dragon fruit extract (EAg solution)

15 mL of double distilled water was added by 7.5 mL of Dragon fruit extract (containing 52.50±1.43 mg/mL total phenolic content) at a stirring speed of 300 rpm and 60 ^{o}C for 30 minutes to obtain a homogenous solution. Next, 7.5 mL of $AgNO_3$ 5 mM was added dropwise into the above solution and let the reaction happen in 2 hours at room temperature. This solution of nano silver (AgNPs solution) was freeze-dried to form nano silver powder (AgNPs powder).

2.3. Synthesis of nanofiber containing diosmetin and AgNPs by electrospinning

A 14% (w/w) PVA solution was prepared by dissolving PVA in water at 80-90 ^{o}C for 3-4 hours to obtain a homogenous solution. Next, it was mixed with silver nanoparticles solution (EAg solution) by a volume ratio of 90:10 (v/v) at 60 ^{o}C under continuous stirring for 2 hours until a homogenous solution was obtained.

Besides, the diosmetin solution was prepared in DMSO at different concentrations at 0.1%, 0.2%, 0.3% and 0.4% (w/w) over the input of polymer. Subsequently, the diosmetin solutions were syringed into the PVA/EAg under continuous stirring and sonicated at 220W for 10 minutes before electrospinning.

The production of electrospun membranes containing DT was performed on an electrospinning system, the S-250-24 model (Center for Technology Research and Development, Institute of Chemical Technology).[3] This system comprises essential components, including a high-voltage electrostatic generator, and a constant flow pump. A 10 mL syringe containing the spinning solution was placed on top of the constant-flow pump, and a blunt-ended needle (inner diameter of 0.05 mm) was linked to the positive electrode. The yarn collector was covered with aluminium foil which was connected to the negative electrode. The experimental parameters were adjusted to a spinning voltage of 7 kV, an optimized injector-to-collector distance (TCD) of 4 cm, and a flow rate of 0.2 mL/h. All electrospinning processes were performed under ambient conditions. The resultant samples were carefully collected on aluminum foil and dried at 60 ^{o}C for 24 hours to remove residual solvents.

2.4. Scanning Electron Microscopy (SEM)

SEM is a method used to analyze the morphology of samples. The fiber films were subjected to SEM analysis to evaluate the mean diameter and uniformity of the fibers. The surface morphology of all fibrous films was observed with an S-4800 (Hitachi, Japan) under 10 kV voltage condition with a maximum resolution of 500 nm and magnification up to 60 thousand times. The fiber diameter is an important parameter to evaluate the uniformity of the fiber film. The mean diameter of each fiber film was determined from the value of 50 random fiber diameters measured by the open-source software ImageJ.

2.5. XRD

The X-ray diffraction (XRD) patterns of electrospun nanofibers were measured utilizing an XRD EQUINOX 5000 diffractometer (Thermo Sciencetific, France) using a Cu X-ray tube ($\lambda CuK\alpha$ = 0.1542 nm). The 2θ angles were performed with recording at 2θ = 10°-80° and a step size of 0.02°/V to study lattice parameters.

2.6. FTIR

FT-IR spectroscopy was used to examine the compatibility between polymers, the presence of DT in the fiber film, and the change of functional groups. The FT-IR spectra of the samples were collected in the wavenumber range of 500-4000 cm^{-1} in transmission mode

using a spectrometer Bruker fulsor 27 (Bruker, Germany) and every sample was meticulously mixed with potassium bromide (KBR).

2.7. Drug encapsulation rate

Drug loading efficiency (DE%) is defined as the ratio of the drug in the nanofiber to the original mass of the drug. The samples were subsequently dissolved in diluted DMSO. The efficiency of the pack is evaluated utilizing absorption spectrometry (UV-Vis), using a Jasco V-630 measuring device (Jasco Corporation, Japan) at the wavelength of maximum absorption of Dt, which is 348 nm. The formula for calculating drug loading efficiency (%EE):

$$\%DE = \frac{m_f}{m_i} \times 100\%$$

where m_f (mg) is the actual amount of DT successfully added to the fiber membrane and m_i (mg) is the theoretical content of DT in the fiber membrane.

2.8. Antibacterial evaluation

The antibacterial activity of pure diosmetin, P14E2Ag1 nanofiber (contains only silver nanoparticles), and P14E2Ag1DT0.1 (contains diosmetin and silver nanoparticles) was evaluated using the agar diffusion method with a bacteria-membrane contact time of 24 hours. Two bacterial strains used in the experiment were *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Bacteria, after proliferation in TSB and turbidity adjustment with saline (OD600 approximately 0.1 - 0.12, equivalent to about 1.2 – 1.5 × 10^8 CFU/mL), were added to MHB medium at a ratio of 1:300. Transfer 5 mL of medium (containing bacteria) into sterilized test tubes. Add the test membranes (UV-irradiated) to each test tube containing bacteria. The control sample is the one without the membrane. Incubate the test tubes containing bacteria and membranes at 37 °C on a shaker for 24 hours. At 0 hours and 24 hours, dilute the sample in a decimal series with physiological saline. At the last three dilution levels, pipette 100 µL of bacterial suspension onto MHA medium, repeating each dilution twice. Choose agar plates with about 30 - 300 colonies and count the total number of colonies.

$$\text{CFU/mL} = \text{colonies} \times 10^{\text{dilution} + 1}$$

3. RESULTS AND DISCUSSION

The silver nanoparticles were produced by Dragon fruit-based extract which served as both a reducing and stabilizing agent. Herein, in Figures 1a and b, the SEM showed the aggregation of silver nanoparticles owing to the powder form for SEM preparation, the silver nanoparticles are spherical and monodisperse, the size distribution expressed a small distribution of the particles size which range from 10-50 nm of which the average diameter was 26.8±5.9 nm. This confirmed the ability of the agricultural resources to be ideally potential reducing agents for nanoparticle formation.

In the Dragon fruit-based extract, the solution of silver nanoparticles and AgNPs powder showed the specific wavenumbers from 4000-400 cm^{-1} in Figure 1c. The extract had the characteristic wavenumbers at 3264 cm^{-1} (OH vibration), 2927 cm^{-1} (C-H stretching), 1575 cm^{-1} (C=O stretching), 1390 cm^{-1} (C-O), 1040 cm^{-1} (C-O-C). The silver nanoparticles in solution and powder form have their characteristics. Concretely, the wavenumbers at 3268 cm^{-1}, 2920 cm^{-1}, 1583 cm^{-1}, 1391 cm^{-1}, 1037 cm^{-1}, and 887 cm^{-1} for AgNPs powder while the others of 3275 cm^{-1}, 2922 cm^{-1}, 1537 cm^{-1}, 1391 cm^{-1}, 1042 cm^{-1} và 888 cm^{-1} for AgNPs solution which are assigned for O-H, C-H, C=O, C-O, C-O-C and Ag-O, respectively. The

presence of the new peak at 887 cm^{-1} or 888 cm^{-1} has proved the presence of some functional groups on the surface of silver nanoparticles. The Dragon fruit extract is diversified in flavonoids and polyphenols which are plentiful of hydroxyl and carboxyl to reduce the silver ions into silver nanoparticles. Hence, the solution will turn from yellow into dark brown (data not shown).

The X-ray diffraction (XRD) in Figure 1d depicted the specific peaks at 2θ values of 38°, 44°, 63°, 76° which corresponds to the (hkl) values (111), (200), and (311) planes for the face-centered cubic (fcc) crystal structure of resultant silver nanoparticles, this data is relevant to JCPDS 00-004-0783.[11] Besides, the presence of some minor signals at values of 22.5°, 32.5°, 42.5°, 46.5° owing to the introduction of some bioactives from the extract. The strongest signal of silver nanoparticles was at 2θ = 38º, and the average crystalline size D, was 14.3 nm by using the Debye-Scherrer equation.

Next, the electrospinning technique was used to create nanofiber containing diosmetin and silver nanoparticles. The resultant nanofibers at different concentrations of diosmetin (from 0% to 0.4%) were characterized by FTIR measurement and X-ray diffraction as described below.

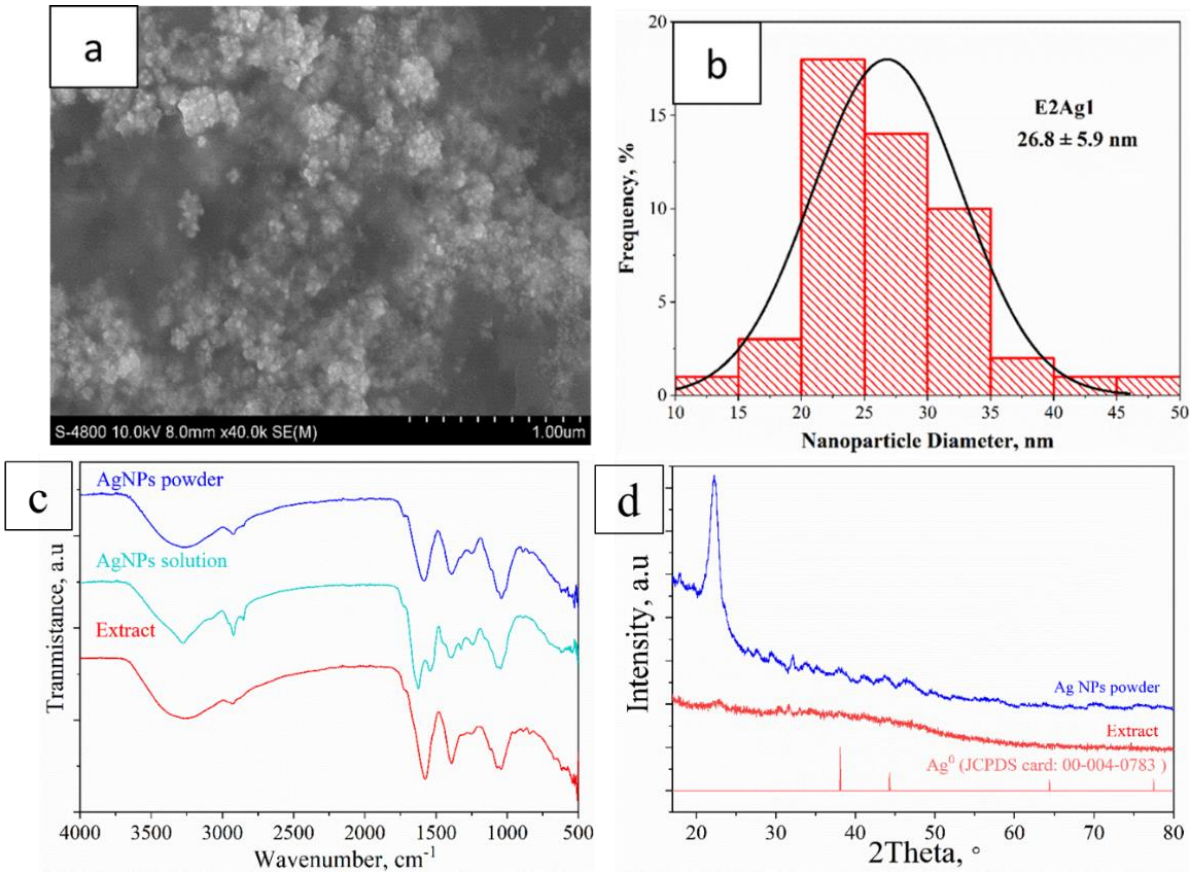


Figure 1. (a) The SEM picture of silver nanoparticles (AgNPs) (the scale bar is 1.00 µm); (b) the size distribution of AgNPs by capturing 100 particles; (c) the FTIR spectrum of AgNPs powder, AgNPs solution and the extract; (d) the XRD diagram of AgNPs powder and the extract

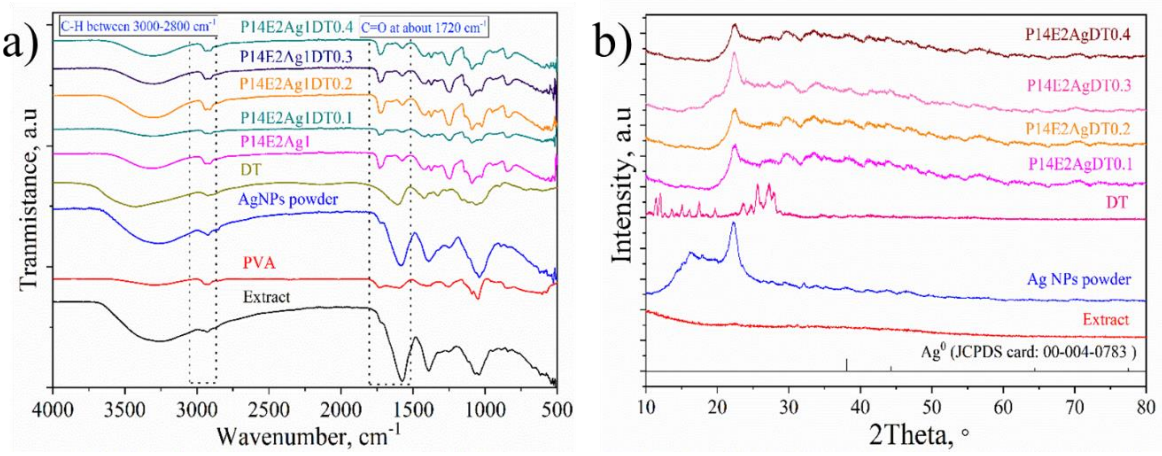


Figure 2. (a) and (b) the FTIR and the XRD data of the P14E2Ag1DT0.1 sample

Table 1. The specific wavenumbers of functional groups.

Functional group		**O–H**	**C–H**	**C=O**	**C=C**	**C–O**
Wavenumber (cm^{-1})	Diosmetin (DT)	3419	2924	1607	1423	1061
	AgNPs powder	3268	2920	1583	1390	1040
	P14E2Ag1*	3330	2940	1732	1421	1091
	P14E2Ag1DT0.1**	3325	2941	1734	1572	1092
	P14E2Ag1DT0.2**	3320	2939	1730	1573	1090
	P14E2Ag1DT0.3**	3294	2939	1731	1574	1091
	P14E2Ag1DT0.4**	3312	2938	1731	1573	1090

*: the nanofiber contains only silver nanoparticles;

**: the nanofibers contain silver nanoparticles and diosmetin.

Figure 2a expressed the FTIR spectrum of diosmetin, Ag Nps powder and nanofiber containing both components at different concentrations of diosmetin and Table 1 showed the specific wavenumbers of them. First, the OH vibration at 3300 cm^{-1} did not have any change following the increase in diosmetin concentration owing to the hydrogen bonding between the OH groups of extract and diosmetin, however, the appearance of these OH groups were broader than that of PVA, this proved that there was a binding between the OH groups between the extract and PVA.

Figure 2b gave us the XRD diffractogram of diosmetin, Ag NPs and nanofiber at different concentrations of diosmetin. The silver nanoparticles have some specific 2θ values of 37.8º, 44.06º, 63.6º, and 77.3º which are related to (111), (200), (220) and (311) planes of face-centered cubic of silver nanoparticles.[11] Moreover, the samples P14E2Ag1DT0.1, P14E2Ag1DT0.2, P14E2Ag1DT0.3, P14E2Ag1DT0.4 produced another intensive scattering angle at 2θ value of 22º which corresponds to the bioactives in the extract that are deposited onto the surface of silver nanoparticles. They contained the peaks of silver nanoparticles at 2θ values of 37.8º and 44.06º. Besides, the pure diosmetin has specific strong peaks at 2θ values of 11.5º, 17.3º, 26.5º, 27.9º along with medium peaks at 2θ values of 10.4º, 14.2º, 28.7º. In the nanofiber structure, although the peaks of diosmetin were low compared with the pure one, they still presented at 2θ = 12.7º, 14.8º, 16.03º, 23.6º, 28.5º which are ensured for the incorporation of diosmetin and silver nanoparticles into the structure of the nanofiber by electrospinning technique.

Regarding drug encapsulation efficiency, all the samples P14E2Ag1DT0.1, P14E2Ag1DT0.2, P14E2Ag1DT0.3, P14E2Ag1DT0.4 have measured the concentration of diosmetin by establishing the diosmetin standard curve in DMSO solvent. They showed a minor dissimilarity in encapsulation efficiency based on the increase in the concentration of diosmetin input. We can see that the increase in diosmetin concentration from 0.1 to 0.2% will elevate the drug entrapment from 82.03% to 83.38% owing to the high surface area to volume of the nanofiber containing a high amount of diosmetin and not be aggregated. However, a decrease from 83.38% to 83.16% and 81.43% if we use 0.3% and 0.4% of diosmetin, respectively. This is explained by the high amount of diosmetin resulted in the aggregation of the drug and poor encapsulation rate.

In Figure 4a-c, the morphology of silver nanoparticles presented in the structure of fiber was spherical with an average diameter of about 6.19±2.02 nm. Next, the SEM in Figure 4d captured the size of the nanofiber containing silver nanoparticles and diosmetin was 225.2 nm in diameter. Finally, Figure 4e showed the highest antibacterial ability of P14E2Ag1DT0.1 compared with pure diosmetin or P14E2Ag1 (without diosmetin) over both *S. aureus* (71.15%) and *P. aeruginosa* (60.24%).

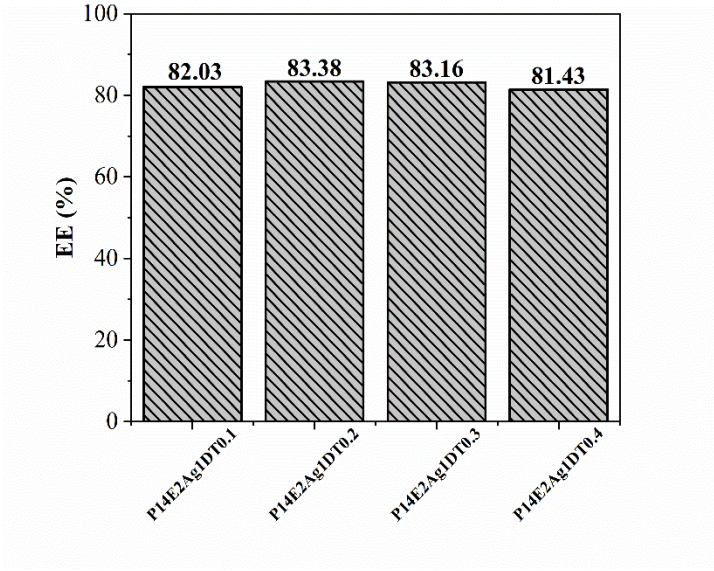


Figure 3. The evaluation of diosmetin encapsulation of nanofibers samples from P14E2Ag1DT0.1, P14E2Ag1DT0.2, P14E2Ag1DT0.3, P14E2Ag1DT0.4

Conflict of Interest. The authors declare no conflict of interest.

Data Availability Statement. The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

4. CONCLUSION

In this study, silver nanoparticles were successfully produced by green extract from Dragon fruit which contains plenty of flavonoids and polyphenols that act as reducing and stabilizers. The electrospinning technique formed the nanofiber containing either silver nanoparticles or diosmetin which was characterized by their presence by FTIR, X-ray diffraction, and SEM measurement. The resultant nanofiber showed a higher antibacterial ability, such as *S. aureus* and *P. aeruginosa*, compared with pure diosmetin or nanofiber containing only silver nanoparticles. This research has potentially benefited from topical wound healing, but further *in vitro* and *in vivo* evaluation should be made in the future.

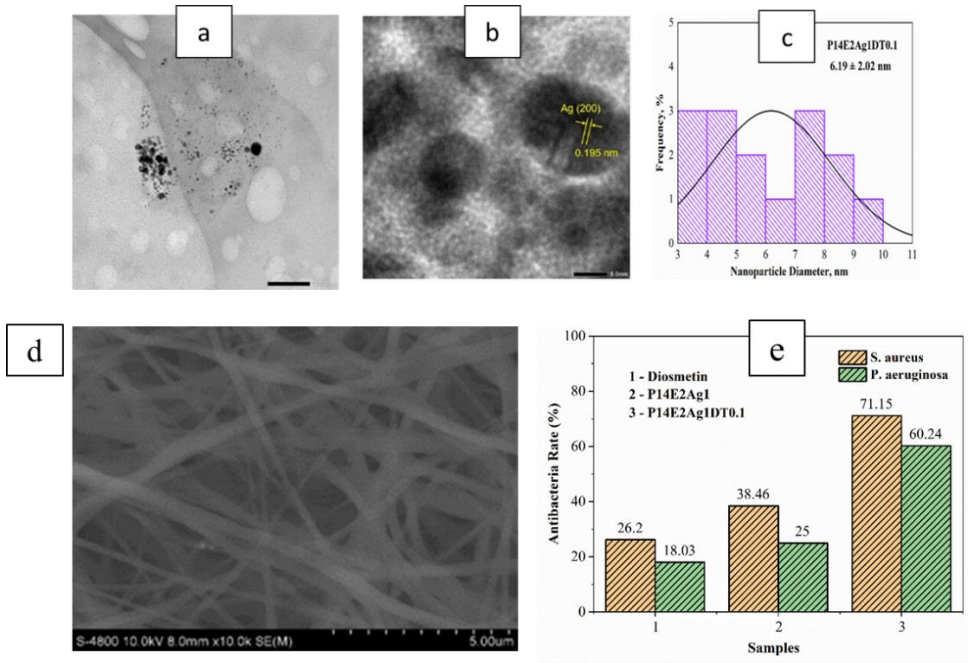


Figure 4. The structure and parameters of P14E2Ag1DT0.1: (a), (b) and (c) the TEM graphs and the size distribution of AgNPs embedded into the structure of the polymer; d) the SEM picture of P14E2Ag1DT0.1 (the scale bar is 5.0 μm); e) the evaluation of antibacterial, *S. aureus* and *P. aeruginosa* respectively, of diosmetin, P14E2Ag1 and P14E2Ag1DT0.1

REFERENCES

1. Huynh T. K. C. et al. Enhanced solubility and in vitro drug release of diosmetin from soy lecithin based-diosmetin phytosome, *Vietnam J. Chem.*, **2024**, *52*(6), 792-803.
2. Wójciak M. et al. Antioxidant Potential of Diosmin and Diosmetin against Oxidative Stress in Endothelial Cells, *Molecules*, **2022**, *27*, DOI: 10.3390/molecules27238232.
3. Gia-Thien Ho T. et al. Fabrication and Characterization of Electrospun Diosmetin-Loaded Membranes for Enhanced Solubility, *ChemistrySelect*, **2024**, *9*(19), e202400633.
4. Vrbata P. et al. Electrospinning of diosmin from aqueous solutions for improved dissolution and oral absorption, *International Journal of Pharmaceutics*, **2014**, *473*(1), 407-413.
5. Matthews J. A. et al. Electrospinning of Collagen Nanofibers, *Biomacromolecules*, **2002**, *3*(2), 232-238.
6. Laramée A. W., C. Lanthier, and C. Pellerin. Electrospinning of Highly Crystalline Polymers for Strongly Oriented Fibers, *ACS Applied Polymer Materials*, **2020**, *2*(11), 5025-5032.
7. Türkoğlu G. C. et al. PVA-Based Electrospun Materials - A Promising Route to Designing Nanofiber Mats with Desired Morphological Shape - A Review, *Int. J. Mol. Sci.*, **2024**, *25*(3), 1668.
8. Magdy G. et al. A comprehensive review on silver nanoparticles: Synthesis approaches, characterization techniques, and recent pharmaceutical, environmental, and antimicrobial applications, *Microchemical Journal*, **2024**, *196*, 109615.
9. Singh M. et al. Silver Nanoparticles and Its Mechanistic Insight for Chronic Wound Healing: Review on Recent Progress, *Molecules*, **2022**, *27*(17).

10. Nhi T. T. Y. et al. Green synthesis of pectin-silver nanocomposite: Parameter optimization and physico-chemical characterization, *Vietnam J. Chem.*, **2022**, *60*(S1), 66-71.

11. Mehta B. K., M. Chhajlani, B. D. Shrivastava. Green synthesis of silver nanoparticles and their characterization by XRD, *Journal of Physics: Conference Series*, **2017**, *836*(1), 012050.

Corresponding author: **Thi Kim Dung Hoang**
Institute of Chemical Technology
Vietnam Academic of Science and Technology
1A, TL29 Street, Thanh Loc ward, District 12
Ho Chi Minh City, Vietnam
Email: hoangthikimdung@gmail.com.

ADVANCED POLLUTANTS REMOVAL AND BIOMASS PRODUCTION FROM DOMESTIC WASTEWATER USING *Chlorella sorokiniana* C_{BEO} IN RACEWAY POND

Luu Thi Thu Ha[1,2], Nguyen Thi Phuong Dung[1,2], Bui Thi Thu Uyen[3], Ba Thi Duong[3], Dao Duy Khanh[3], Tran Huu Quang[3], Tran Dang Thuan[3*]

[1]*Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18, Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam*

[2]*Department of Applied Science, University of Transport Technology, 54, Trieu Khuc, Thanh Xuan, Hanoi, Vietnam*

[3]*Institute of Chemistry, Vietnam Academy of Science and Technology, 18, Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam*

Received 10 Feb 2025; Revised 20 Feb 2025; Accepted 1 Mar 2025

Abstract

This study has investigated outdoor production of *Chlorella sorokiniana Cbeo* in domestic wastewater as the nutrient source using Tank 50 L (T-50L) and raceway (RW, 4 m^2) as photobioreactor sytems. Experiments were performed in batch mode with the aim of recovering valuable nutrients (carbon, nitrogen, and phosphorous) from the waste stream to improve algal biomass productivity. Dry biomass productivity was 20.4 g/m^2/day. The maximum nitrogen and phosphorous removal rates determined for RW and T-50L were 10.34 mg N/L/day and 8.66 mg P/L/day, respectively. Pollutants in term of COD, total nitrogen (TP), total phosphorous (TP) were removed by the *C. sorokiniana* C_{beo} in the RW system reached 97.9%, 88.27%, and 99.9%, respectively, during 11 days of the cultivation. The resulting effluent after harvesting the algal biomass met regulated standard column A of national technical regulation on domestic wastewater QCVN 14-MT:2015/BTNMT. Our trial results demonstrated that it is promising to use domestic wastewater as the sole nutrient source for the large-scale production of *C. sorokiniana* C_{beo} biomass in RW system thus reducing the biomass production cost by replacing the use of expensive and non-sustainable chemical fertilizers. Moreover, the production of *C. sorokiniana* C_{beo} also helps to obtaining returns from the treatment of this type of waste stream, which is currently considered as a major source of domestic wastewater pollution in Vietnam.

Keywords: Biomass production, *C. sorokiniana* C_{beo}, domestic wastewater, pollutants removal, raceway pond.

1. INTRODUCTION

Severe water pollution occurred in major cities in Vietnam such as Hanoi and Ho Chi Minh City was mainly caused by increasing accumulation of organic carbon, nitrogen and phosphorous compounds which are originated from domestic wastewater, into water bodies without sustainable treatments. This is a consequence of rapid industrialization and modernization process since the renovation policy launched in 1986.[1] It has recently reported that only total of 21% domestic wastewater containing 17% of urban wastewater and 4% of septage were currently treated by via centralized wastewater treatment plants, while the remaining (79%) is directly released into water bodies including rivers, lakes, and canals.[2] Practically, 21% domestic wastewater treated was mostly applied traditional activated sludge technologies, which often produce the effluent remaining phosphorous and nitrogen in the form of ammonium and/or nitrate and that still requires another post-treatment process. In addition, the activated processes usually generate a vast volume of sludge, which is currently

not solved properly. This results in a secondary pollution such as bad smell generation as well as requirement of large area for disposal or post-treatment.[2]

Microalgae have been proven to be effective in removing carbon, nitrogen, and phosphorous in a wide type of wastewaters such as synthetic wastewater,[3-5] municipal wastewater,[6-8] carpet mill effluents-dominated wastewater,[9] domestic wastewater,[10] swine manure,[11] agro-industrial wastewater,[12] palm oil mill effluent,[13] and so on. Interestingly, instead of generating vast quantity of sludge as activated sludge technologies applied, cultivation of microalgae in wastewater produces biomass having variety applications in bioenergy, food, feed, nutrition and cosmetic fields.

The main challenges to wide-scale production of microalgae for low-values and large quantity such as feed, biofertilizers and bioenergy are nutrients, water requirements, algae productivity, and energy needed for downstream processing.[14] As wastewaters are large volume and contain considerable concentration of these nutrients, therefore wastewaters are promising nutrient sources for microalgae growth.[15,16] Moreover, growing microalgae in wastewater replacing long term use of chemical fertilizers will become more sustainable, particularly in the generation of low cost biomass for biorefinery.[17] Therefore, In Vietnam, microalgae have been broady used for remediation of wastewater streams,[18,19] desalination of polymer and chemical industrial wastewater (*Chlorella* sp.),[20,21] piggery wastewater.[22]

In order to improve algal productivity, reactors need to be considered because microalgae production cost is a direct function of the photobioreactors used and productivity achieved. However, the area and volume of the required reactor is an inverse function of its productivity, hence enhancing biomass productivity directly reduces the biomass production cost for whatever the photobioreactor technology used. Despite widely use of raceway ponds as the most common reactors, the algal production in thin-layer photobioreactors could achieve algal productivity of 55 g/m^2/day,[23] which is even higher than 45 g/m^2/day[24] reported for tubular photobioreactors and 30 g/m^2/day reported for open raceway.[25] In practice, although both closed and open reactors could be used, only open reactor systems can afford to reduce production cost of microalgae biomass.

The objectives of this study are (i) to investigate growth, biomass productivity and nutrient removal capability of a *Chlorella sorokiniana* C_{beo} in domestic wastewater outdoor cultivation mode in raceway pond (RW), (ii) to carry out harvesting study of *Chlorella sorokiniana* C_{beo} biomass grown in a pilot raceway pond using coagulation/flocculation method using polyaluminum chloride (PACl) and (iii) to evaluate effluent quality in comparison to national standard for domestic wastewater.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials

Refer to supplementary materials.

2.2. Algae growth in wastewater

Refer to supplementary materials.

2.3. Analysis

2.3.1. Algal growth monitoring and biomass productivity

The growth of *C. sorokiniana* C_{beo}, including dry weight and chlorophyll a concentration was simultaneously determined. Dry weight was determined with filter paper (Whatman 0.45 μm, 47 mm, UK). Dry weight (DW, g/L) was calculated using equation (1).

$$DW = \frac{m_a - m_b}{V} \quad (1)$$

where m_a and m_b are the weights of oven-dried filter at 105 ^oC to aconstant mass after and before filtration, respectively, and V is the volume of the microalgal suspension filtered.

The specific growth rate (μ, 1/day) was determined from the linear coefficient of the equation modelling (2) the exponential phase of the growth curve.

$$\mu = \frac{(\ln X_2 - \ln X_1)}{t_2 - t_1} \quad (2)$$

where X_2 and X_1 are dry biomass concentrations (g/L) measured at time slot t_2 (day) and t_1 (day), respectively.

Pigments were extracted by pure methanol at 60 ^oC for 30 min, and the amount of chlorophyll *a* (Chl-*a*, mg/L) was calculated using equation (3).

$$\text{Chl-}a = \frac{(15.65OD_{666} - 7.34OD_{653})V_{MeOH}}{V_{\text{algal suspension}}} \quad (3)$$

where OD_{666} and OD_{653} are optical densities at 666 nm and 653 nm, respectively; V_{MeOH} and $V_{\text{algal suspension}}$ are the volumes of methanol and microalgal suspension used for extraction of pigments, respectively.

The areal biomass productivity was calculated using equation (4):

$$P = \frac{C \times V}{A \times t} \quad (4)$$

where C is dry biomass concentration (g/L), V is working volume of reactor (m^3), A is illuminated surface are (m^2), t is cultivation time (day) and P is a real productivity ($g/m^2/day$).

2.3.2. Domestic water quality assay

For nutrient concentration measurement, 250 mL of each sample was filtered by VWR Sterilie 0.45 μm cellulose acetate membrane syringe filters (VWR, Radnor, PA) and diluted to concentrations within the reasonable detection range of anions, including ammonium, nitrite, nitrate, and phosphate. Chemical oxygen demand (COD), residual nitrogen (e.g., NH_4^+-N, NO_2^--N, NO_3^--N, total nitrogen (TN)) and phosphorous (PO_4^{3-}-P, total phosphorous (TP)), *E. coli* and total suspended solids (TSS) were determined using standard methods for the examination of water and wastewater published by American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.[26] Heavy metals were determined by an inductively coupled plasma mass spectrometry (7900 ICP-MS, Agilent Technologies, California, USA).

Removal efficiency of nutrients was calculated by following equation (5).[3-5]

$$H_i = (1 - \frac{C_i}{C_{0i}}) \times 100 \quad (5)$$

where H_i is removal efficiency of either COD, NH_4^+, NO_2^-, NO_3^-, total nitrogen (TP), PO_4^{3-}, and total phosphorous (TP) (%), C_{0i} is initial concentration of either COD, N-NH_4^+, N-NO_2^-, N-NO_3^-, TN, P-PO_4^{3-}, and TP (mg/L), and C_i is concentration of either COD, N-NH_4^+, N-NO_2, N-NO_3^-, TN, P-PO_4^{3-}, and TP (mg/L) measured at time slot (t).

2.3.3. Harvesting biomass

The *C. sorokiniana* C_{beo} biomass was harvested at the end of cultivation by coagulation/flocculation method using poly aluminium chloride (PACl) as a coagulant/flocculant agent. The optimal PACl concentration achieved to obtain maximum coagulation/flocculation efficiency of the *C. sorokiniana* C_{beo} was determined as 0.2 g/L with mixing rate of 50-100 rpm during 60 min.[27]

2.3.4. Statistical analysis

The experiments carried out in T-50L and RW were run twice in parallel with two replicates and the results were presented as mean ± S.D. of all four biological replicates and measurements ($n = 4$). Statistical analysis was done using one-way ANOVA followed by post hoc Tukey's test (Graph pad V7) and a p-value of < 0.05 was taken as significant. The statistical analysis was conducted using SPSS 22.0 (IBM, USA).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Domestic wastewater characteristics

Data shown in Table S1 indicates that the pre-filtered domestic wastewaters loaded into RW and T-50L were slightly alkaline (pH = 8.05). This is caused by the contribution of household wastewater which contains a high concentration of soda-rich washing detergents. Chemical oxygen demand (COD) was determined as 193.86 mg/L, representing that the waste stream was also rich in organic carbon compound. Notably, the wastewater was rich in nitrogen pollutants in which ammonium (NH_4^+-N) was a dominant species having concentration of 76.05 mg/L. Nitrite and nitrate were also detected with relatively small concentration of 0.04 mg/L and 1.21 mg/L, respectively. The dominant phosphorous compound found in the wastewater was phosphate (PO_4^{3-}-P) with concentration of 17.49 mg/L. Total nitrogen and phosphorous compounds measured in the wastewaters were in the range of 77.25 mg/L and 17.49 mg/L, respectively. Total suspended solids (TSS) measured after pre-filtration step was 0.089 mg/L, which can be neglected in contribution to biomass concentration measurement during cultivation of microalgae. The *E. coli* concentration was determined as 5.7×10^5 cells/100 mL. Heavy metals including Cd, Hg, PB, Fe, Cu, Mn, Zn and Ni were detected at magnitude of 10^{-4} to 10^{-2} mg/L, among them Fe, Cu, Mn, Zn and Ni are micronutrients that are essential for microalgal growth. As the domestic wastewater contained inevitable elements of carbon, nitrogen, phosphorous compounds, as well as micronutrients (Fe, Cu, Mn, Zn, and Ni) for miroalgal growth. Thefore, the wastewaters were directly used as media for cultivation of *C. sorokiniana* C_{beo} without supplement of other nutrients (except CO_2) in all following experiments.

3.2. Algal growth and biomass productivity

Data shown in Table S2 indicates that the culture temperature was varied in the range of 23.6-26.7 ^oC and 23.2-27.1 ^oC measured for T-50L and RW, respectively. These temperature ranges were reported to be preferable for *Chlorella* to grow. The pH values of the algal culture determined in T-50L and RW systems were varied in the range of 8.05-8.7 and 8.05-8.7, respectively. Slight increase of pH was attributed to production of the HCO_3^- through addition of external CO_2, which was dissociated via reaction of $CO_2 + H_2O \rightarrow HCO_3^- + H$. However, these pH ranges are also preferable values for the growth of *Chlorella*. Light intensity irradiated for the algal culture was naturally controlled and daily varied. The light intensity was daily measured at three time slots of 09:00 am, 12:00 am and 04:00 pm. The maximum light intensity was measured in the range of 10970-17450 lux at 12:00 am, while measurement conducted at 09:00 am and 04:00 pm only achieved 4180-6170 lux (Table S3).

Growth of *C. sorokiniana* C_{beo} in T-50L and RW system are illustrated as variation trend of chlorophyll *a* (Fig. 1A) and biomass concentration (Fig. 1B). Data reveals that *C. sorokiniana* C_{beo} experienced all characteristics growth phases in these batch cultures except the lag phase. The absence of the lag phase was attributed to the algal seed cultures inoculated into the domestic wastewater media in T-50L and RW were already in exponential phase, supporting *C. sorokiniana* C_{beo} to immediately grow in the exponential stage. The exponential phase lasted for 8 days, following stationary phase until the end of cultivation. Fig. 1A shows that chlorophyll *a* of *C. sorokiniana* C_{beo} increased sharply in the log phase and then remained stable or further increased slightly in all reactor systems. The final chlorophyll *a* content of *C. sorokiniana* C_{beo} measured in T-50L was 136.1 mg/L which was significantly higher than 82.5 mg/L achieved in RW. Consistently, dry biomass concentration of *C. sorokiniana* C_{beo} grown in the two reactor systems also increased dramatically in exponential phase and then followed stationary phase. Specific growth rate of the *C. sorokiniana* C_{beo} cultured in T-50L and RW were determined as 0.42 L/day and 0.34 L/day (Table 1), respectively. The maximum corresponding dry biomass concentrations determined for *C. sorokiniana* C_{beo} cultured in T-50L and RW were 2.64 g/L and 1.70 g/L, respectively (Fig. 1B). Dry microbial biomass determined for the control T-50L and RW were 0.31 g/L and 0.19 g/L (Fig. 1B), respectively, which are accounted for 12% of the total dry biomass measured for the microalgae-bacteria consortia in T-50L and RW systems cultured with *C. sorokiniana* C_{beo}.

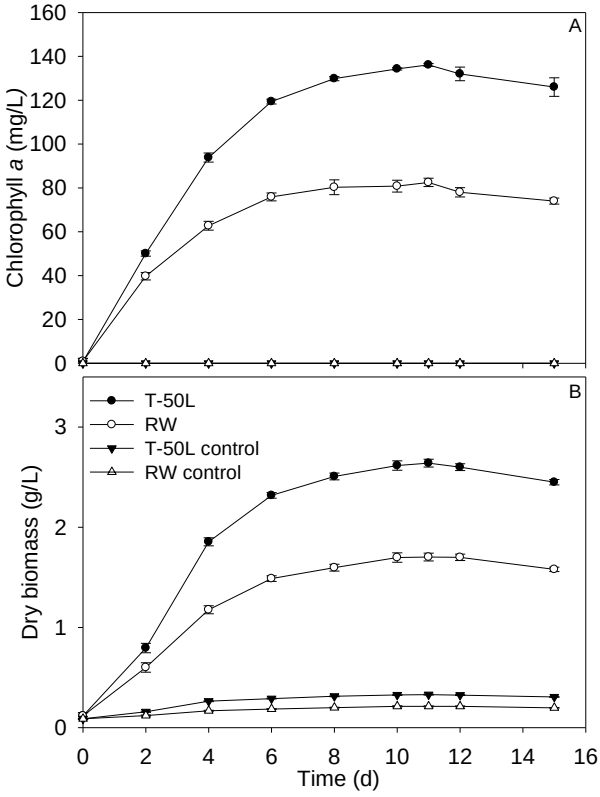


Figure 1. Variation trend of chlorophyll *a* (A) and biomass concentration (B) of *Chlorella sorokiniana* C_{beo} grown in T-50L and RW (n = 4). T-50L, Tank 50L; RW, raceway pond

The maximum areal dry biomass productivities obtained for for *C. sorokiniana* C_{beo} grown in T-50L and RW were 30.8 g/m^2/day and 20.4 g/m^2/day, respectively. These values are significantly lower than the maximal value reported for *Scenedesmus* sp. of 45 g/m^2/day grown in anaerobic digestion centrate[28] and *Chlorella* sp. of 55 g/m^2/day both in thin-layer photobioreactor.[23] However, these values were close to biomass productivity of *Chlorella* sp. of 23-38 g/m^2/day achieved during summer time in Trebon (the Czech Republic) when

thickness culture of 6-7 mm was used.[29,30] Tubular photobioreactors have been reported as the most efficient reactors for production of algal biomass with mean algal productivities varied between 20 and 45 g/m^2/day.[31-33] The productivity obtained for *C. sorokiniana* C_{beo} in RW is comparable to 30 g/m^2/day reported for *Isochrysis* and *Chlorella* grown in raceway pond.[20,34]

Table 1. Specific growth rate and area biomass productivity of *Chlorella sorokiniana* C_{beo} grown in T-50L and RW (n = 4)

Reactor	Maximum specific growth rate (L/day)	Area productivity (g/m^2/day)
T-50L	0.42±0.11	30.77±4.21
RW	0.34±0.07	20.44±3.93

T-50L, Tank 50L; RW, raceway pond.

3.3. Pollutant removal efficiency

The variation in COD, NH_4^+-N, NO_3^--N, NO_2^--N, PO_4^{3-}-P and removal efficiency of total nitrogen (TN) and total phosphorous (TP) in T-50L and RW system is illustrated in Fig. 2. COD was remarkably reduced from 193.86 to 2.87 mg/L in T-50L and from 193.86 mg/L to 4.12 mg/L in RW during 11 days of the cultivation (Fig. 2A), resulting to COD removal efficiency of 98.5% and 97.9%, which are far higher than 29.4 and 14.7% determined for only microbial cultures in T-50L and RW as the controlling experiments, respectively (Fig. 2F). The results implied that the *C. sorokiniana* C_{beo} used in this study could well utilize different organic compounds as carbon sources besides CO_2. This was similar to results reported by other studies which stated that *Chlorella* sp. can grow mixtrophically (e.g., they can simultaneously use light and organic compounds as energy sources and assimilate CO_2 and glucose or simple acids as carbon sources.[5,11,35,36]

Variation trends of nitrogen species (NH_4^+-N, NO_3^--N, and NO_2^--N) were shown in Fig. 2B-D. The concentration of NH_4^+-N sharply dropped from 76.05 to 1.22 mg/L in T-50L, while gradually reduced from 76.05 to 2.88 mg/L in RW (Fig. 2B). The removal efficiency of NH_4^+-N in T-50L and RW were determined as 98.7 and 96.2%, respectively, with removal capacity of NH_4^+-N ranging from 73.17-75.05 mg/L, which were similar to 75 mg/L determined for *Chlorella* sp. grown in municipal centrate[6] and much higher than 10 mg/L reported for *Chlorella sorokiniana* UTEX 2805[4] and 30 mg/L reported for a mixture of green algae and diatoms.[37] This data indicates that the *C. sorokiniana* C_{beo} used in this study can survive in domestic wastewater having high concentration of NH_4^+-N. The removal of NH_4^+-N from wastewater by microalgae is attributed to two processes, which are direct utilization of NH_4^+-N and NH_3 stripping.[38] Previous studies reported that NH_3 stripping occurred only under alkaline, elevated temperature[39] and abundant presence of urea in wastewater.[40] Experimental temperature of this study was recorded to not exceed 27 ^oC and urea was not presence in the wastewater, therefore the stripping of NH_3 from the wastewater might not be significant in our study, and the loss of NH_4^+-N could mainly be attributed to the absorption by microalgae. Moreover, the reduction of NH_4^+-N concentration was attributed to a biological nitrification process which produces NO_2^--N and NO_3^--N and causes their concentration increasing (Fig. 2C-D). The *Nitrosomonas* spp. performs nitrification of NH_4^+-N to NO_2^--N and *Nitrobacter* spp. performs nitration of NO_2^--N to NO_3^--N. It was reported that population size of *Nitrosomonas* spp. is always larger than *Nitrobacter* spp. in unsterilized wastewater medium[41] thus it causes accumulation of NO_2^--N (Fig. 2C) at greater concentration (maximum 10.45 mg/L to 21.54 mg/L) than NO_3^--N (Fig. 2D) (maximum 1.86 mg/L to 2.73 mg/L). It was also observed that, the building up of NO_2^--N and NO_3^--N

concentration from nitrification process were gradually assimilated by microalgae biomass. The depletion of NH_4^+-N leaded to gradual decrease of NO_2^--N and the following depletion of NO_2^--N leaded to gradual decrease of NO_3^--N as manifested in wastewater treatment system using bacteria-microalgae consortium. As the matter of fact, microalgae concurrently assimilated all nitrogen species (partly products of bacteria) while generating biomass.[42] Total nitrogen removal efficiency determined for *C. sorokiniana* C_{beo} grown in T-50L and RW were 97.08% and 88.27%, which are remarkably higher than 40.2 and 30.8% measured for only microorganisms grown in the controll T-50L and RW, respectively (Fig. 2F).

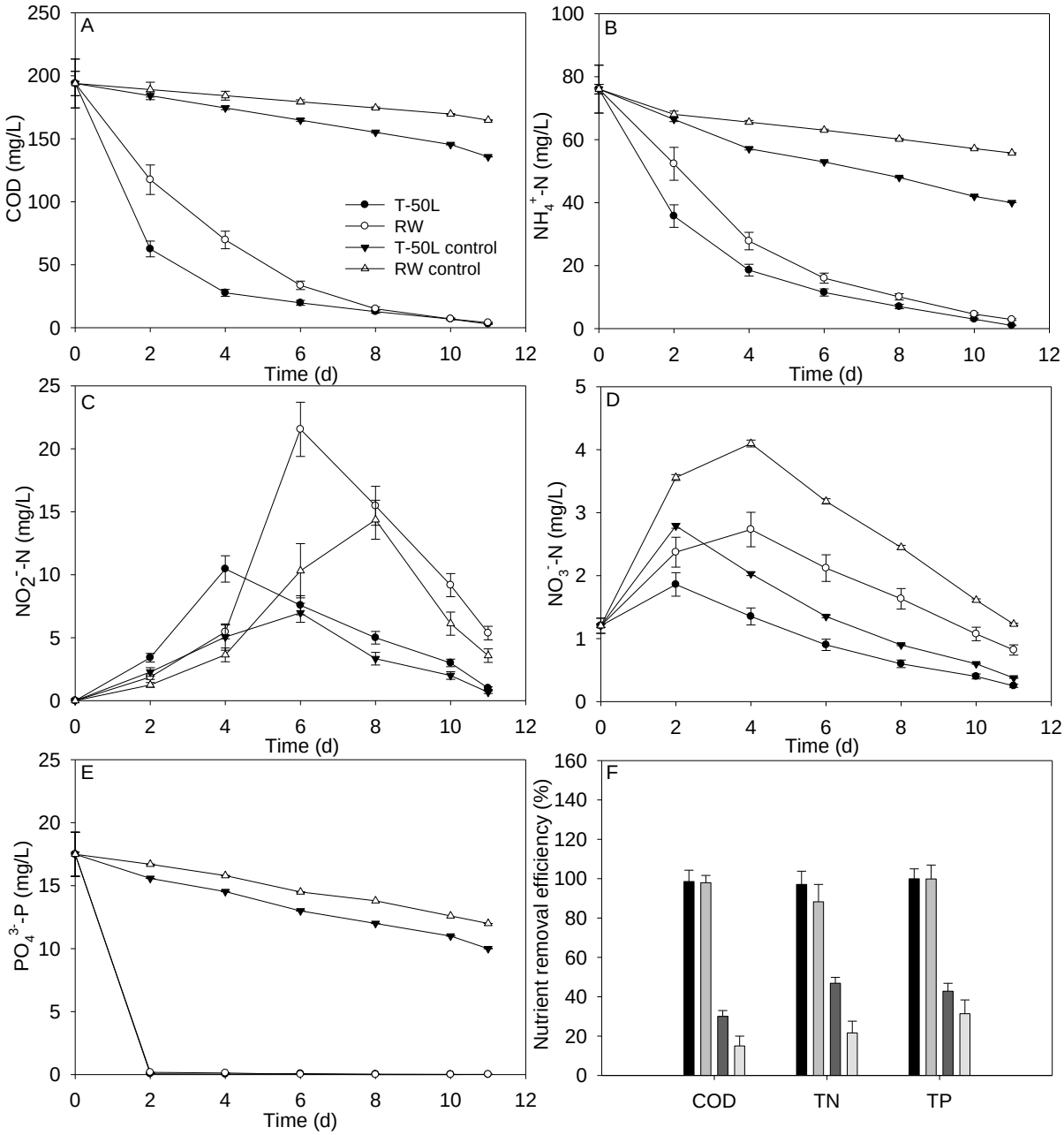


Figure 2. Trends of COD, NH_4^+, NO_2^-, NO_3^-, PO_4^{3-} and removal efficiency of COD, TN, and TP during cultivation of *C. sorokiniana* C_{beo} in T-50L and RW (n = 4). T-50L, Tank 50L; RW, raceway pond

Phosphate was drastically reduced from an initial concentration of 17.49 mg/L to 0.06-0.17 mg/L in the first two days of cultivation in two reactor systems, and stayed at lower concentration until the end of experiments (Fig. 2E). During 11 days of the batch cultivation, total phosphorous was removed by 99.9% in both reactor systems (Fig. 2F). Unfortunately, microbial cultures in T-50L and RW controlls only achieved 44.3 and 21.6% of the total phosphorous removal efficiency (Fig. 2F). The results were similar to phosphorous removal efficiency (99%) of the mixture of green algae and diatom from dairy wastewater [37] but higher than 79.0-80.9% determined for *Chlorella* sp. grown in municipal wastewaters.[6] Since pH value of the algal culture was measured at around 8.05-8.7 (Table S2), the possibility of phosphate coagulation and adsorption of inorganic phosphate can be neglected[43] leading to the removal of phosphorous was mainly caused by algal metabolic uptake. It was importantly noted that the *C. sorokiniana* C_{beo} used in this study continued to remove nitrogen species when phosphorous was exhausted, demonstrating that the *C. sorokiniana* C_{beo} can survive in a range of phosphorous-limiting conditions. The results were agreement with experimental data achieved with *Chlorella vulgaris* grown in artificial wastewater and secondary effluent from wastewater treatment plants. [3]

Data shown in Table S4 indicates that the nutrient removal rate values determined for *Chlorella sorokiniana* C_{beo} grown in T-50L and RW were 17.36-65.68 mg COD/L/day and 17.26-38.20 mg COD/L/day, 6.82-18.13 mg N/L/day and 6.20-10.34 mg N/L/day, 1.59-8.72 mg P/L/day and 1.59-8.66 mg P/L/day, respectively. The achieved maximum nitrogen removal rates were significantly lower than those previously reported of 34.7-38 mg N/L/day for *Scenedesmus* sp. grown in both thin-layer photobioreactor and raceway;[28,44] or 47.5 mg N/L/day for *Muriellopsis* sp. and 27.5 mg N/L/day for *Pseudokirchneriella subcapitata*;[45] or 35 mg N/L/day for *N. gaditana* grown in bubble-column photobioreactors under laboratory conditions.[46] However, these nitrogen removal rates were comparable to 8.5-22.7 mg N/L/day reported for *Chlorella* sp. grown in cylindrical photobioreactors[47] and 0.5-12 mg N/L/day reported for mixture of *Scenedesmus quadricauda* and *Scenedesmus falcatus* grown in outdor raceway.[48] Notebly, the maximum phosphorous removal rates determined for *Chlorella sorokiniana* C_{beo} were higher than and 3.8 mg P/L/day for *Muriellopsis* sp. and 2.7 mg P/L/day for *Pseudokirchneriella subcapitata* grown in bubble-column photobioreactors under laboratory conditions and 5.7 mg P/L/day for *N. Gaditana*;[46] or 3.9-4.32 mg P/L/day for *Scenedesmus* sp. grown in both thin-layer photobioreactor and raceway.[28, 44]

3.4. Harvesting biomass

The *C. sorokiniana* C_{beo} culture was pumped by a centrifugal pump (Shelton 150, Thanh Loi Electric Co., Ltd, Hanoi, Vietnam) into two cylindrical plastic tanks (working volume of 250 L) while simultaneously added with PACl at optimal concentration of 0.2 g/L[27] and mixed manually for 10 min under nature pH of the algal culture (pH 8.0-8.4). The *C. sorokiniana* C_{beo} cells aggregated by PACl to form larger blocks and settled down to the bottom of the tanks. Supernatant water was withdrawn by the centrifugal pump and coagulated biomass was further filtered using filter cloth (NMO, pore size 25 μm, Dong Chau Environmental Construction Co., Ltd, Vietnam) to obtain wet solid biomass product. The initial concentration of the *C. sorokiniana* C_{beo} culture measured in RW and T-50L before harvesting were C_i = 1.70 g/L and 2.64 g/L, respectively, while concentration of biomass in supernatant after coagulation/flocculation were C_f = 0.06 g/L and 0.09 g/L, resulting harvesting efficiency for *C. sorokiniana* C_{beo} biomass in RW and T-50L of 96.5% and 96.6%, respectively. The dewatered biomass was dried at 25 ^oC until obtaining a constant masss using a cool dryer (MSL300MT, Mactech Co., Ltd, Vietnam) to obtain flake biomass. The flake

form was further ground by a mini grinder (800A, LaLiFa Co., Ltd, Vietnam) to obtain fined algal powder (< 5 µm) for other uses.

3.5. Water quality of effluent

Water quality was daily monitored to evaluate whether main indexes (e.g., pH, COD, TN, and TP) of effluent meets discharging standard regulated in national technical regulation on domestic wastewater QCVN 14-MT:2015/BTNMT,[49] which was modified from QCVN 14:2008/BTNM and approved by Vietnam Mistry of Natural Resources and Environment since 2015. Table S5 summaries wastewater quality measured before and after growth of the *C. sorokiniana* C_{beo} in_T-50L and RW systems. Data reveals that all wastewater quality indexes in term of nutrients (e.g., pH, COD, TN, and TP) measured at effluent of T-50L and RW after harvesting are met both Class A and Class B1 of the QCVN 14-MT:2015/BTNMT. Moreover, pH of the effluent was measured as 8.0-8.4, which is fairly met the regulated range of 6- 9.

We have demonstrated that simultaneous algal biomass production and nutrients removal by microalgal strain *C. sorokiniana* C_{beo} can be sequentially implemented in either plastic tank or raceway pond followed by simple harvesting with PACl for final recovery of algal biomass and obtaining oxygenated effluent. Both targets of production of value biomass and treatment of pollutants were efficiently achieved in about 11 days. Although T-50L showed to be higher algal productivity and nitrogen removal efficiency, the RW also demonstrated a comparable capability as T-50 L. These two reactor systems should be further optimized in order to apply for specific conditions to achieve designed performance.

4. CONCLUSION

It was demonstrated that *C. sorokiniana* C_{beo} can be produced outdoor in open photobioreactors using domestic wastewater as the sole nutrient source without any further modification. The utilization of the waste stream also allows the recovery of nutrients constituted in this residue. T-50L proved to be more efficient both in terms of biomass productivity and nitrogen removal efficiency with 30.8 g/m^2/day and 18.13 mg N/L/day compared to 20.4 g/m^2/day and 10.34 mg N/L/day which were achieved by RW. Pollutants in term of COD, total nitrogen (TP), total phosphorous (TP) were removed by the *C. sorokiniana Cbeo* in the two reactor systems reached 97.9-98.5%, 88.27-97.1%, and 99.9-100%, respectively during 11 days of the cultivation, resulting fresh effluent met column A of national technical regulation on domestic wastewater QCVN 14-MT:2015/BTNMT. The results obtained in this study are useful for further optimization including design and manage *C. sorokiniana* C_{beo}-based processes for the production of low-value biomass from waste stream.

REFERENCES

1. Vo P. L. Urbanization and water management in Ho Chi Minh City, Vietnam-issues, challenges and perspectives, *Geo. Journal*, **2007**, *70*(1), 75-89.
2. ARCOWA - Wastewater management and resource recovery in Vietnam: current status and opportunities, **2018**.
3. Chamberlin J., Harrison K., Zhang W. Impact of nutrient availability on tertiary wastewater treatment by *Chlorella vulgaris*, *Water Environ. Res*., **2018**, *90*(11), 2008-2016.
4. de-Bashan L. E., Trejo A., Huss V. A. R., Hernandez J. P., Bashan Y. *Chlorella sorokiniana* UTEX 2805, a heat and intense, sunlight-tolerant microalga with potential for removing ammonium from wastewater, *Bioresour. Technol*., **2008**, *99*(11), 4980-4989.

5. Gao F., Yang H. L., Li C., Peng Y. Y., Lu M. M., Jin W. H., Bao J. J., Guo Y. M. Effect of organic carbon to nitrogen ratio in wastewater on growth, nutrient uptake and lipid accumulation of a mixotrophic microalgae *Chlorella* sp., *Bioresour. Technol.* **282** (2019) 118-124.
6. Li Y., Chen Y. F., Chen P., Min M., Zhou W., Martinez B., Zhu J., Ruan R. Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production, *Bioresour. Technol*., **2011**, *102*(8), 5138-5144.
7. Chi Z., Zheng Y., Jiang A., Chen S. Lipid production by culturing oleaginous yeast and algae with food waste and municipal wastewater in an integrated process, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **2011**, *165*(2), 442-453.
8. Choi H. J., Lee S. M. Effect of the N/P ratio on biomass productivity and nutrient removal from municipal wastewater, *Bioprocess. Biosyst. Eng*., **2015**, *38*(4), 761-766.
9. Chinnasamy S., Bhatnagar A., Hunt R.W., Das K. C. Microalgae cultivation in a wastewater dominated by carpet mill effluents for biofuel applications, *Bioresour Technol*., **2010**, *101*(9), 3097-3105.
10. Leong W. H., Lim J. W., Lam M. K., Uemura Y., Ho C. D., Ho Y. C. Co-cultivation of activated sludge and microalgae for the simultaneous enhancements of nitrogen-rich wastewater bioremediation and lipid production, *J. Taiwan Inst. Chem. Eng*., **2018**, *87*, 216-224.
11. Hu B., Min M., Zhou W., Du Z., Mohr M., Chen P., Zhu J., Cheng Y., Liu Y., and Ruan R. - Enhanced mixotrophic growth of microalga *Chlorella* sp. on pretreated swine manure for simultaneous biofuel feedstock production and nutrient removal, *Bioresour Technol.*, **2012**, *126*, 71-79.
12. Kamyab H., Din M. F. M., Hosseini S. E., Ghoshal S. K., Ashokkumar V., Keyvanfar A., Shafaghat A., Lee C. T., Bavafa A. A., Majid M. Z. A. Optimum lipid production using agro-industrial wastewater treated microalgae as biofuel substrate, *Clean Technol. Environ. Policy*, **2016**, *18*(8), 2513-2523.
13. Cheah W. Y., Show P. L., Juan J. C., Chang J. S., Ling T. C. Waste to energy: the effects of *Pseudomonas* sp. on *Chlorella sorokiniana* biomass and lipid productions in palm oil mill effluent, *Clean Technol. Environ. Policy.*, **2018**, *20*(9), 2037-2045.
14. Pienkos P.T., Darzins A. The promise and challenges of microalgal-derived biofuels, *Biofuels Bioprod Biorefin*, **2009**, *3*(4), 431-440.
15. Le T. G., Tran D. T., Van Do T. C., Nguyen V. T. Design considerations of microalgal culture ponds and photobioreactors for wastewater treatment and biomass cogeneration. In: Alam MA, Wang Z, editors. Microalgae Biotechnology for Development of Biofuel and Wastewater Treatment. Singapore: *Springer Singapore*, **2019**, 535-567.
16. Cai T., Park S. Y., Li Y. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects, *Renew. Sust. Energ. Rev.*, **2013**, *19*, 360-369.
17. Pittman J. K., Dean A. P., Osundeko O. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources, *Bioresour Technol*., **2011**, *102*(1), 17-25.
18. Bhuyar P., Hong D., Mandia E., Ab. Rahim M. H., Maniam G. P., Govindan N. Salinity reduction from poly-chem-industrial wastewater by using microalgae (*Chlorella* sp.)

collected from coastal region of Peninsular Malaysia, *The Yale Journal of Biology and Medicine*, **2020**, *1*, 1-14.

19. Hong D. D., Ha N. C., Thom L. T., Van Quyen D., Cuc N. T. K., Huong N. T. L., Rao A. R., Ravishankar G. A. Algal-mediated bioremediation of wastewater streams with a special focus on the successes achieved in Vietnam, *Algae Mediated Bioremediation*, **2024**, 633-661.
20. Nguyen M. T., Nguyen T. P., Pham T. H., Duong T. T., Do M. V., Trinh T. V., Nguyen Q. T. X., Trinh V. M. Removal of nutrients and cod in wastewater from vietnamese piggery farm by the culture of *Chlorella vulgaris* in a pilot-scaled membrane photobioreactor, *Water*, **2022**, *14*(22), 3645.
21. Pham M. D., Bui X. T., Vo T. K., Dao T. S., Le L. T., Vo T. D., Huynh K. P., Nguyen T. B., Lin C., Visvanathan C. Microalgae - bacteria based wastewater treatment systems: Granulation, influence factors and pollutants removal, *Bioresour Technol*., **2025**, *418*, 131973.
22. Prakash B., Dang Diem H., Emelina M., Mohd Hasbi Ab R., Gaanty Pragas M., Natanamurugaraj G. Desalination of polymer and chemical industrial wastewater by using green photosynthetic microalgae, *Chlorella* sp. Maejo, *International Journal of Energy and Environmental Communication*, **2019**, *1*(3), 9-19.
23. Masojídek J., Kopecký J., Giannelli L., Torzillo G. Productivity correlated to photobiochemical performance of *Chlorella* mass cultures grown outdoors in thin-layer cascades, *J Ind Microbiol Biotechnol*., **2011**, *38*(2), 307-317.
24. Acién F. G., Fernández J. M., Magán J. J., Molina E. Production cost of a real microalgae production plant and strategies to reduce it, *Biotechnol. Adv*., **2012**, *30*(6), 1344-1353.
25. Moheimani, Navid Reza, Borowitzka M. A. Limits to productivity of the alga *Pleurochrysis carterae* (Haptophyta) grown in outdoor raceway ponds, *Biotechnol. Bioeng.*, **2007**, *96*(1), 27-36.
26. Rice E. W., Baird R. B., and Eaton A. D. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 23rd Edition ed: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, **2017**.
27. Pham T. M., Doan B. H., Tran D. T., Nguyen T. H., Pham T. M. H., Nguyen Q. T. Study on the harvesting methods of *Chlorella sorokiniana* and *Scenedesmus acuminatus* cultured in minicipal wastewater, *J. Sci. Technol*., **2019**, *52*, 70-85.
28. Morales-Amaral M.d.M., Gómez-Serrano C., Acién F. G., Fernández-Sevilla J. M., Molina-Grima E. Outdoor production of *Scenedesmus* sp. in thin-layer and raceway reactors using centrate from anaerobic digestion as the sole nutrient source, *Algal. Res*., **2015**, *12*, 99-108.
29. Doucha J., and Lívanský K. Productivity, CO_2/O_2 exchange and hydraulics in outdoor open high density microalgal (*Chlorella* sp.) photobioreactors operated in a Middle and Southern European climate, *J. Appl. Phycol*., **2006**, *18*(6), 811-826.
30. Doucha J., Lívanský K. Outdoor open thin-layer microalgal photobioreactor: potential productivity, *J. Appl. Phycol*., **2009**, *21*(1), 111-117.
31. Chini Zittelli G., Lavista F., Bastianini A., Rodolfi L., Vincenzini M., Tredici M. R. Production of eicosapentaenoic acid by *Nannochloropsis* sp. cultures in outdoor tubular

photobioreactors. In: Osinga R., Tramper J., Burgess JG., Wijffels RH., editors. Prog Ind Microbiol: Elsevier, **1999**, 299-312.

32. Christenson L., Sims R. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts, *Biotechnol. Adv.*, **2011**, *29*(6), 686-702.
33. San Pedro A., González-López C. V., Acién F. G., Molina-Grima E. Outdoor pilot-scale production of *Nannochloropsis gaditana*: Influence of culture parameters and lipid production rates in tubular photobioreactors, *Bioresour Technol.*, **2014**, *169*, 667-676.
34. Boussiba S., Sandbank E., Shelef G., Cohen Z., Vonshak A., Ben-Amotz A., Arad S., Richmond A. Outdoor cultivation of the marine microalga *Isochrysis galbana* in open reactors, *Aquaculture*, **1988**, *72*(3), 247-253.
35. Ogawa T., Aiba S. Bioenergetic analysis of mixotrophic growth in *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus*, *Biotechnol. Bioeng.*, **1981**, *23*(5), 1121-1132.
36. Pagnanelli F., Altimari P., Trabucco F., Toro L. Mixotrophic growth of *Chlorella vulgaris* and *Nannochloropsis oculata*: interaction between glucose and nitrate, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **2014**, *89*(5), 652-661.
37. Woertz I., Feffer A., Lundquist T., and Nelson Y. Algae grown on dairy and municipal wastewater for simultaneous nutrient removal and lipid production for biofuel feedstock, *J. Environ. Eng.*, **2009**, *135*(11), 1115-1122.
38. Tam N. F. Y., Wong Y. S. Wastewater nutrient removal by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus* sp., *Environ Pollut.*, **1989**, *58*(1), 19-34.
39. Reeves T. G. Nitrogen removal: A literature review, *Journal Water Pollution Control Federation*, **1972**, *44*(10), 1895-1908.
40. Matusiak K. Studies on the purification of wastewater from the nitrogen fertilizer industry by intensive algal cultures. I. Growth of *Chlorella vulgaris* in wastes, *Acta microbiologica Polonica*, **1976**, *25*(3), 233-242.
41. Gerardi M. H. Introduction to Nitrification. Nitrification and Denitrification in the Activated Sludge Process: *John Wiley & Sons, Inc.*, **2003**, 35-41.
42. Collos Y., Berges J. Nitrogen metabolism in phytoplankton. *Mar Ecol.*, **2002**.
43. Song Y., Hahn H. H., Hoffmann E. Effects of solution conditions on the precipitation of phosphate for recovery: A thermodynamic evaluation, *Chemosphere.*, **2002**, *48*(10), 1029-1034.
44. Jebali A., Acien F. G., Rodriguez Barradas E., Olguin E. J., Sayadi S., Molina Grima E. Pilot-scale outdoor production of *Scenedesmus* sp. in raceways using flue gases and centrate from anaerobic digestion as the sole culture medium, *Bioresour Technol.*, **2018**, *262*, 1-8.
45. Morales-Amaral M.d.M., Gómez-Serrano C., Acién F. G., Fernández-Sevilla J. M., Molina-Grima E. Production of microalgae using centrate from anaerobic digestion as the nutrient source, *Algal. Res.*, **2015**, *9*, 297-305.
46. Sepúlveda C., Acién F.G., Gómez C., Jiménez-Ruíz N., Riquelme C., and Molina-Grima E. Utilization of centrate for the production of the marine microalgae *Nannochloropsis gaditana*, *Algal. Res.*, **2015**, *9*, 107-116.

47. Marcilhac C., Sialve B., Pourcher A. M., Ziebal C., Bernet N., Beline F. Digestate color and light intensity affect nutrient removal and competition phenomena in a microalgal-bacterial ecosystem, *Water Res*., **2014**, *64*, 278-287.

48. Sevrin-Reyssac J. Biotreatment of swine manure by production of aquatic valuable biomasses, *Agric Ecosyst Environ*., **1998**, *68*(3), 177-186.

49. Ministry of Natural Resources and Environment - National technical regulation on domestic wastewater, QCVN 14-MT:2015/BTNMT.

Corresponding author: **Tran Dang Thuan**
Institute of Chemistry, Vietnam Academy of Science and Technology
18, Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam
Email: tdangthuan@ich.vast.vn. Tel.: +84-969056709.

CLIOTIDE CYCLOTIDES, PLANT-DERIVED PEPTIDES FROM *Clitoria ternatea* LINN: ISOLATION, CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY

Tam T. T. Tran[1], Son H. Pham[1], Yen N. D. Pham[1], Son T. Cu[1], Tu V. Tran[1], Tuan H.N. Nguyen[2], Henry Bui[3], Tien T. Dang[1*]

[1]Institute of Applied Materials Science, Vietnam Academy of Science and Technology, 1B TL29, District 12, Ho Chi Minh City, Vietnam

[2]Biomedical Research Center, Pham Ngoc Thach University of Medicine; Department of Medical Biochemistry & Molecular Biology, Pham Ngoc Thach University of Medicine, 2, Duong Quang Trung, Ward 12, District 10, Ho Chi Minh City, Vietnam

[3]Hoan Vu Biomolecule Analysis and Research Center Joint Stock Company, 51, Tran Phu, District 5, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 10 Feb 2025; Revised 20 Feb 2025; Accepted 1 Mar 2025

Abstract

Cyclotides are attracting heightened interest due to their prospective applications in pharmaceuticals and sustainable agriculture. Cyclotides, characterized by a cyclic backbone and cysteine residues that form three disulfide bridges, are integral to the plant barrier defense system and exhibit a range of biological activities. This study involved the extraction of *Clitoria ternatea* using three different methods, followed by a comparative analysis of their LC-MS spectra and an assessment of antibacterial and antifungal activities. The article presented an innovative method that integrated acetonitrile and ethanol in a 1:1:1 ratio with water. This approach demonstrated significant antibacterial activity with an inhibition zone of 15-18 mm and moderate antifungal activity with an inhibition zone of approximately 10 mm. The precipitate underwent several RP-HPLC purification processes, resulting in the effective isolation of pure peptides. The identification of two cyclotides, cliotide T8 and cliotide T9, was conducted using LC-MS/MS in conjunction with a cyclotide database. The two cyclotides demonstrated notable activity against *Pseudomonas aeruginosa* and *Listeria ivanovii*, with MIC values of 1 and 1.6 µM, respectively.

Keywords: Cyclotides, cliotide T8, cliotide T9, MS/MS, *Clitoria ternatea* Linn.

1. INTRODUCTION

Plants produce various toxic substances, one of which is known as the antimicrobial peptides (AMPs). These chemicals engage with phospholipids and traverse membranes to eradicate infections.[1] AMPs specifically target many critical metabolic activities at external, plasma membrane, and/or intracellular locations.[2] The classification of these peptides relies on their amino acid sequence, identity, quantity of cysteine residues, and the inter-residue distance [3]. Antibacterial peptides found in nature generally vary in length from 10 to 50 amino acids, have a molecular weight between 2 to 9 kDa, display a positive charge, and are distinguished by high levels of hydrophobic amino acids [1,4]. The instability of several linear peptides, along with their limited membrane permeability and incapacity to reach intracellular destinations, constrains their therapeutic efficacy.[5] Cyclotide is a plant peptide consisting of 27-37 amino acids, with a mass range of 2.5-4 kDa.[6] The structure is cyclic and features six conserved cysteine residues that create three disulfide bonds, in accordance with the cystine knot (CCK) motif: CysI – CysIV, CysII – CysV, and CysIII – CysVI (Figure 1).[7-9] Cyclotides are unique among peptides because of their cyclic structure, which is defined by the linkage of their N and

C termini via amide bonds. Recent studies have highlighted the importance of the CCK structure in maintaining cyclotide stability.[10,11] Cyclotides exhibit remarkable durability and stability under various chemical, enzymatic, and thermal conditions.[12-14] The remarkable stability of cyclotides renders them significant possibilities for medicinal and agrochemical uses.[15] The use of cyclotide-containing plants in traditional medicine initially highlighted the resilience of these peptides to boiling and their notable oral bioavailability.[16] A recent publication has identified an orally accessible cyclotide that functions as a bradykinin B1 receptor antagonist.[17]

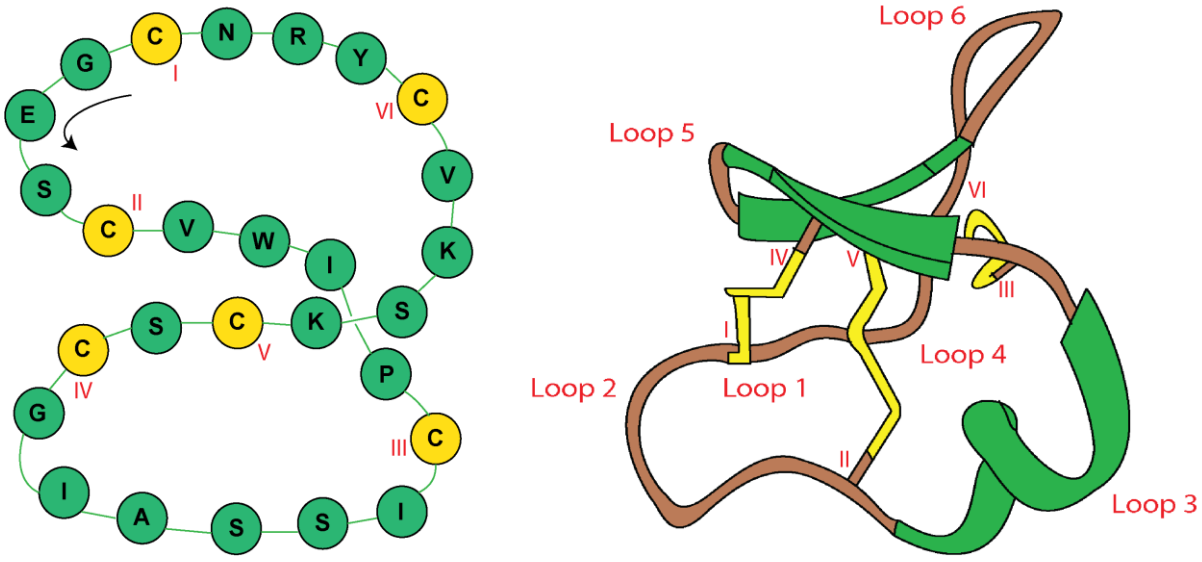


Figure 1. The primary and tertiary structures of cyclotides are classified as Bracelet, specifically cycloviolacin O2. Cysteine residues and disulfide linkages are illustrated in yellow

Cyclotide is a plant-derived peptide that exhibits phytoprotective properties[18] and a range of biological activities, including the induction of uterine contractions,[19] inhibition of human immunodeficiency,[20] antibacterial,[21] cancer cytotoxicity[22] and neuroantagonistic activity.[23] Cyclotides are classified into three subfamilies according to their structural features pertaining to amino acid residues: Möbius, Bracelet, and trypsin inhibitor.[24,25] The Möbius and Bracelet structures exhibit analogous folds; however, they diverge at loop 5, where the cis link between tryptophan and proline induces a 180º twist in the peptide Ω angle of the Möbius fold. The twist differentiates the Möbius taxonomy and distinguishes it from the Bracelet subfamily.[7,26] The third subfamily, trypsin inhibitor cyclotides, exhibits significant differences from the other subfamilies in terms of amino acid sequence, with trypsin inhibition serving as its exclusive biological function.[27] A considerable quantity of plants has multiple cyclotides, which are recognized in species from the Rubiaceae, Violaceae, Fabaceae, Solanaceae, Cucurbitaceae, and Poaceae families.[28,29] The majority of plants possess unique cyclotide profiles, with just a limited number of cyclotides found across many plant species.[28] Various plant components, including leaves, stems, roots, buds, nodules, flowers, pods, and seeds, have been shown to contain cyclotides.[30]

Cyclotides from the Möbius and Bracelet subfamilies exhibit amphiphilic properties owing to the existence of hydrophobic and hydrophilic regions on their molecular surfaces.[31] Cyclotides have molecular traits akin to the amphiphilic features of antimicrobial peptides. A range of physiologically active cyclotides has been found, particularly from *Clitoria ternatea* (Fabaceae), which have been assessed for their antibacterial characteristics, indicating potential applications in antibiotic research. Nguyen G. K. *et al.* successfully extracted cyclotides from *C. ternatea*, showing that all parts of the plant contain cyclotides and exhibit significant

antibacterial activity. As a result, 15 cyclotides were identified, including 12 novel sequences labeled as cyclotides T1-T12.[30] The antibacterial activity tests of cliotide T1 and cliotide T4 from *C. ternatea* had shown substantial antibacterial efficacy against three species of gram-negative bacteria: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa*, with MIC values noted at low micromolar concentrations. Among these strains, *E. coli* demonstrated the greatest sensitivity to the bactericidal effects of cyclotide, with a MIC of roughly 1 μM.[30] Nonetheless, Cliotide T1 and T4 presented little efficacy against both gram-positive organisms: *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis*.[30] In 2016, Nguyen GK *et al.* discovered 41 novel cyclotide sequences, with significant antibacterial efficacy, particularly against gram-negative bacteria, with a MIC of 0.5 μM.[32]

This research involved the initial evaluation of various cyclotide extraction methods from *C. ternatea* using acetonitrile, ethanol, and a solvent mixture, followed by analysis. The optimal approach was evaluated by comparing biological activity, total protein content, and LC-MS data among extract and salt precipitation samples for each technique. Additionally, pure cyclotides obtained from butterfly pea were sequenced via LC-MS/MS utilizing a cyclotide database, demonstrating notable antibacterial efficacy that had not been explored in prior articles.

2. EXPERIMENTAL PROCEDURES

2.1. Extraction and precipitation

Specimens of *C. ternatea* were deposited in the Institute of Applied Materials Science - VAST, Vietnam, under voucher specimen number 202402_01. Fresh components were dehydrated at room temperature and subsequently ground using a medical mill. The ethanol (EtOH) and acetonitrile (ACN), miliQ-water with 1% formic acid (FA), were utilized in three extraction methods with the following ratios: ACN: H_2O (1:1 in v/v), EtOH: H_2O (1:1 in v/v), and ACN: EtOH: H_2O (1:1:1 in v/v). The extractions were performed at ambient temperature overnight and stirred continuously. The extracts were filtered through a screen, the residue was removed, and then centrifuged at 14,000 rpm for 10 minutes. Following centrifugation, the extracts were divided into two components: the first component was cyclotide enriched using salt precipitation, while the second component was subjected to freeze-drying to produce the extract.

Each of the three extracts mentioned previously contained approximately 30% (w/v) ammonium sulfate and incubated for about 3 hours at 4 °C, followed by centrifugation at 14,000 rpm for 10 minutes to gather the precipitate. Employed RP-HPLC to remove the salt from the sample to avoid interference with future analyses. Collected samples were freeze-dried for further use.[33]

2.2. Determination of total protein concentration

A standard curve with a standard protein solution of known concentration was employed to quantify protein in a sample.[33] The Bradford reagent was employed in the bovine serum albumin (BSA) standard curve and the sample for measurement. Absorbance was recorded following a 10-minute reaction period at 595 nm, with the results being replicated three times. Employed the established standard curve along with the observed optical density values of the samples to ascertain the required protein concentration.

2.3. Determination of antibacterial activities by the agar disk diffusion

The agar disk diffusion test was a method employed to evaluate the diameter of the zone inhibiting the germination and proliferation of microorganisms after the diffusion of antibacterial agents into the agar media.[34] The bacteria utilized in this test comprise

Staphylococcus aureus (*S. aureus* - ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa* - B96.5), *Escherichia coli* (*E. coli* - ATCC 25922), and *Listeria ivanovii* (*L. ivanovii* - ATCC 19119). Diluted the bacterial suspension to a concentration of 10^6 CFU/mL and inoculated Mueller Hinton Agar plates (MHA-Himedia) with a sterile cotton swab. Form wells by puncturing with a tip, then dispensed 50 µL of samples into the wells, and incubated the plates for 18 hours at 37 °C. The material was combined with PBS (pH 7.5), and the positive control was Levofloxacin at a concentration of 10 µg/mL. Sterile zone measurements (diameter in mm) were conducted in triplicate and presented as ±SD.

2.4. Minimum inhibitory concentration

The minimal inhibitory concentration (MIC) values were ascertained using the broth dilution method.[34] 90 µL of Luria Bertani Broth (LB-Himedia) was carefully dispensed into the wells of sterile 96-well plates (Biologix). A volume of 100 µL of the sample was injected into the wells using the serial double dilution procedure, with 10 µL of the diluted bacterial solution added to each well, excluding the well designated as the negative control. Subsequently, sealed the plates with parafilm and incubated at 37 °C for a period of 20 hours. Administered 10 µL of 0.015% resazurin sodium salt indicator to each well to assess microbial growth, as evidenced by a color transition from blue to pink, for the determination of the MIC value of the samples. The experiment was carried out on three separate occasions.

2.5. Determination of antifungal activities by the agar disk diffusion

The *Aspergillus flavus* strain was employed to evaluate the antifungal effectiveness of the *C. ternatea* precipitates.[35] The organisms were cultured in PDB medium at 28 °C for three days, thereafter transferred to PDA medium, and incubated at 28 °C for seven days. A fungal suspension was prepared by mixing roughly 1 cm^2 of fungal spores with 10 mL of saline, incorporating two drops of Tween 20, and shaking rapidly to obtain a spore suspension. After a 3 to 5 minutes settling period for the spores, the supernatant was transferred to a test tube with sterile water, and the spore solution was adjusted to an ideal concentration of 1.2 × 10^6 spores. Inoculated the PDA agar plate and uniformly spread the fungal spores with a cotton swab. Wells were formed in each plate using a sterile tip punch (6 mm) and subsequently filled with 50 µL of sample solution. The positive control used was Ketoconazole (500 µg/mL), and the negative control was PBS. The plates were incubated at 28 °C for a duration of 4 to 5 days. The diameter of the antifungal zone was quantified. The experiments were performed thrice.

2.6. Purification of peptides and LC/MS analysis

Peptide analysis and purification via RP-HPLC were conducted using a C18 Phenomenex Gemini 5 µm column (110 Å, 250 × 10 mm) and a C18 Nova-Pak column 4 µm (300 Å, 3.9 mm × 300 mm). A linear gradient was employed to purify the peptides, ranging from 20% to 90% solvent A (miliQ-H_2O and 0.05% trifluoroacetic acid, v/v) and solvent B (methanol/0.05% trifluoroacetic acid, v/v). Elution of analytes occured at a flow rate of 1 mL/min, with detection of compounds using UV absorbance at wavelengths of 213 nm and 280 nm. Segments were gathered manually during peak periods.

The procedures resembled those outlined in the publication by Dang *et al*.[34] The XBridge C18 column, measuring 3.5µm and 2.1 × 150 mm, along with buffer A (miliQ-H_2O, 0.1% FA v/v) and buffer B (ACN, 0.1% FA v/v), were employed for LC-MS analysis using the TripleTOF 6600+ and PeakView@2.2, Sciex.

2.7. Sequence determination by using MS tandem and cyclotide database

The sample was initially dissolved in 200 µL of NH_4HCO_3 buffer at pH 7.5. The cleavage of disulfide bonds was achieved through reduction and alkylation. Samples were diminished using a β-mercaptoethanol solution (Fisher Chemical) and subsequently alkylated using 2-

vinylpyridine (Thermo Scientific Chemicals). The sample was purified by introducing cold acetone in a 9:1 ratio, incubation for approximately 15 minutes at -20 °C, centrifuging the solution, and collecting the precipitate.[36]

Samples underwent enzymatic digestion in preparation for peptide sequencing. Purified cyclotide (subsequent to reduction and alkylation) was subjected to digestion by the addition of 10 µL of endoproteinase GluC (100 µg/µL, derived from *Staphylococcus aureus* V8, Roche Diagnostics GmbH), 10 µL of trypsin (100 µg/µL, Merck), or 10 µL of a 1:1 enzyme mixture. All samples were incubated at 37 °C for 16 hours. [36]

Subsequent to enzymatic digestion, samples underwent LC-MS/MS analysis utilizing an XBridge C18 3.5 µm 2.1 × 150 mm column in an AB SCIEX Triple TOF 6600+ mass spectrometer. MS/MS spectra were analyzed utilizing ProteinPilot search and cyclotide database (https://www.cybase.org.au/) to confirm the accuracy of the sequenced fragments. [36]

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Extraction and salt precipitation

The extraction solvent is crucial in isolating the desired quantity and quality, particularly cyclotides. The majority of research on cyclotides utilized ethanol and acetonitrile as solvents. To address the limitations of earlier methods related to extraction time and cyclotide isolation, Farhadpour *et al.* employed 60% ethanol.[37] Nguyen GK *et al.* reported the identification of two novel cyclotides, designated hedyotide B1 and hedyotide B2, which were extracted from *Hedyotis biflora* using a 50% ethanol solution.[38] Acetonitrile has been reported as a solvent utilized for the extraction of cyclotides from plants.[34,39,40] Poth et al. utilized 50% acetonitrile as the extraction solvent, successfully identifying 12 cyclotides from *C. ternatea* seeds, along with 7 additional cyclotide sequences from *C. ternatea* leaves and flowers.[41,42] This study presented a novel proposal to combine the two solvents, ethanol and acetonitrile, in a volumetric ratio of 1:1:1 with miliQ water (1A:1E:1W). Following extraction, a 30% (w/v) ammonium sulfate precipitation method was employed, resulting in successful peptide enrichment.[43] This procedure enabled the purification of peptides through RP-HPLC (Figure 2).

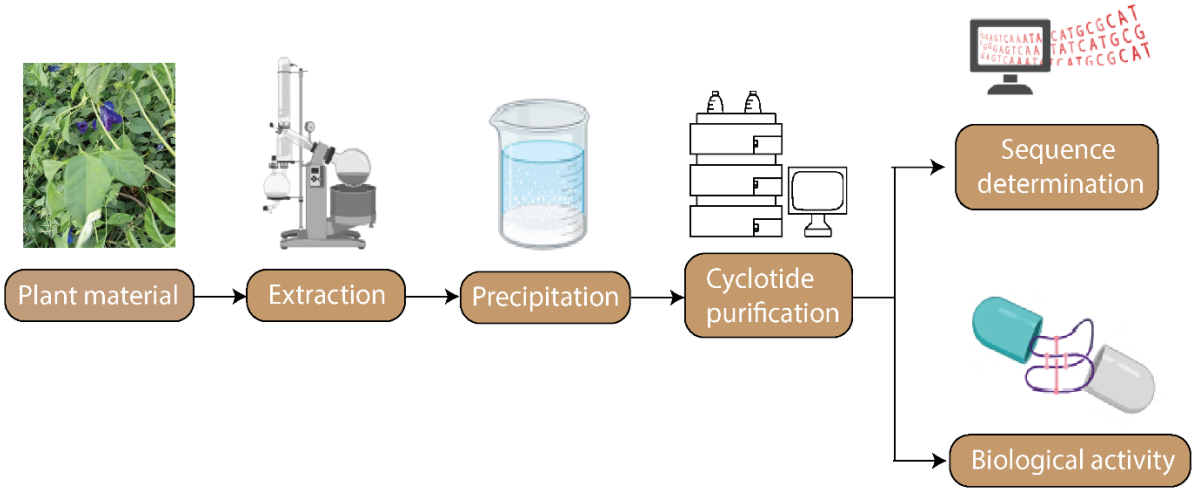
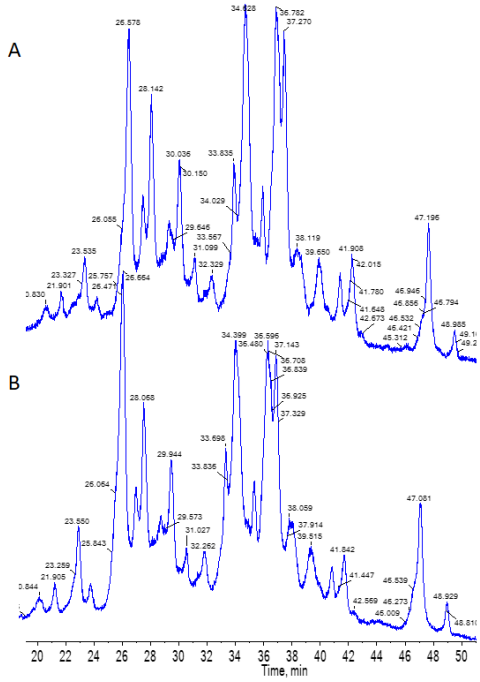


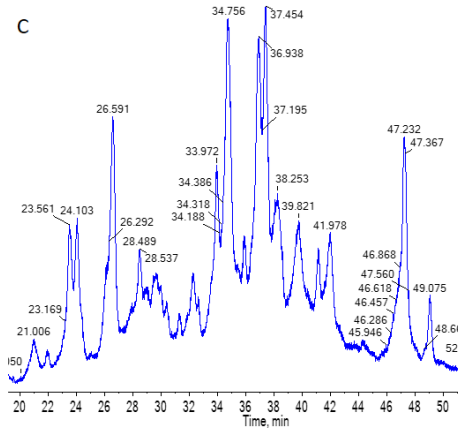
Figure 2. Diagram showing the experimental approach to assess the presence of cyclotide in *C. ternatea* plants and its activity

3.2. Investigation of optimal extraction method

3.2.1. MS analysis of three extracts and precipitates

The precipitates were examined via LC-MS. The mass spectra were shown in Figure 3, indicating that the precipitates contained cyclotides with hydrophobic characteristics, which account for their prolonged elution periods (28-50 min) and mass ranges of 2500 to 4000 Da. Figure 3 (D) presents high-intensity data for various cyclotide-like masses from three precipitates derived from three extraction procedures, compared with Cybase data (https://www.cybase.org.au/). The findings indicated that these masses aligned with previously published cybase cyclotide data.





D

Elution time (min)	m/z	m/z (z)	m/z	m/z (z)
28 -50	*3071.2942 (3)	*1024.7726 (3)	*3226.4244 (3)	*1076.4826 (3)
	*3083.3449 (3)	*1028.7895 (3)	*3242.4250 (3)	*1081.8162 (3)
	*3095.2344 (3)	*1032.7526 (3)	*3250.4319 (3)	*1084.4851 (3)
	*3109.2529 (3)	*1037.4255 (3)	*3256.4060 (3)	*1086.4765 (3)
	*3126.3418 (3)	*1043.1218 (3)	*3288.3917 (3)	*1097.1384 (3)
	*3164.2974 (3)	*1055.7736 (3)		

Figure 3. LC spectra and MS data of precipitates (A) 50% EtOH; (B) 50% ACN; (C) ACN:EtOH:H_2O, (D) Cyclotide-like molecules within elution time from 28 to 50 min of precipitates from *Clitoria ternatea* (only m/z with high intensity)

3.2.2. Determination of total protein concentration

Figure 4 presents the total protein concentration of the extract and precipitates. The extract had a lower protein concentration in comparison to the precipitates. The ammonium sulfate salt precipitation method significantly improved the enrichment of peptides and proteins. Among the three extraction procedures, the extract and precipitates using 50% ACN demonstrated total protein values of 5.615±0.057 (µg/mL) and 16.077±0.081 (µg/mL), respectively, exceeding the protein levels achieved from the other two methods. The extract and precipitate of ACN:EtOH:H_2O in 1% formic acid (1A:1E:1W) demonstrated average protein concentrations of 3.768±0.010 (µg/mL) and 9.951±0.067 (µg/mL). The samples from the 50% EtOH extract and precipitate demonstrated the lowest total protein concentrations, recorded at 3.093±0.005 (µg/mL) and 4.732±0.007 (µg/mL), respectively.

3.2.3. Purification and Sequencing cyclotides

The salt precipitate underwent purification via RP-HPLC four times, resulting in the acquisition of pure cyclotides. LC-MS analysis enabled the identification of cyclotides based on their mass and purity. Figure 5 displays the mass and purity of two cyclotides, cliotide T8 (3071.3029 Da) and cliotide T9 (3126.3509 Da). Purity exceeding 95% was indicated by the presence of a singular and pronounced peak area.

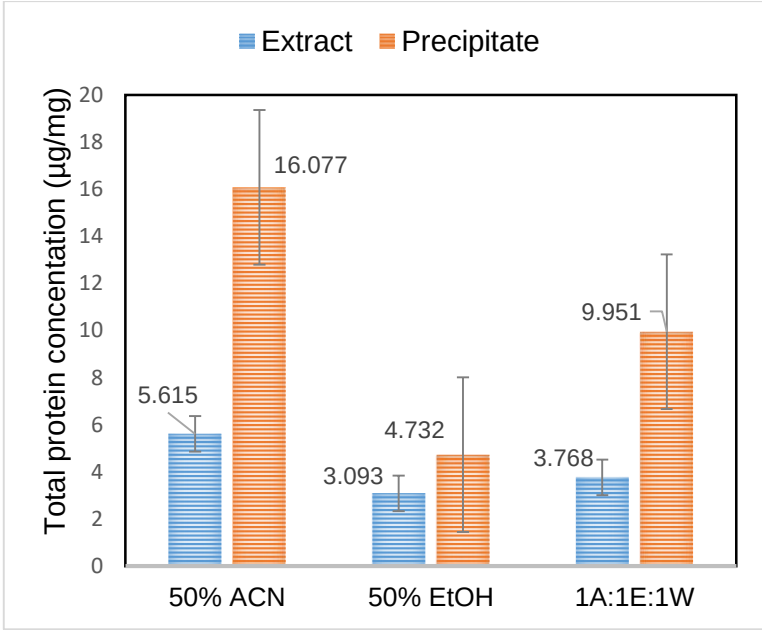


Figure 4. Protein content analysis of extracts and precipitates from three extraction methods (µg/mg)

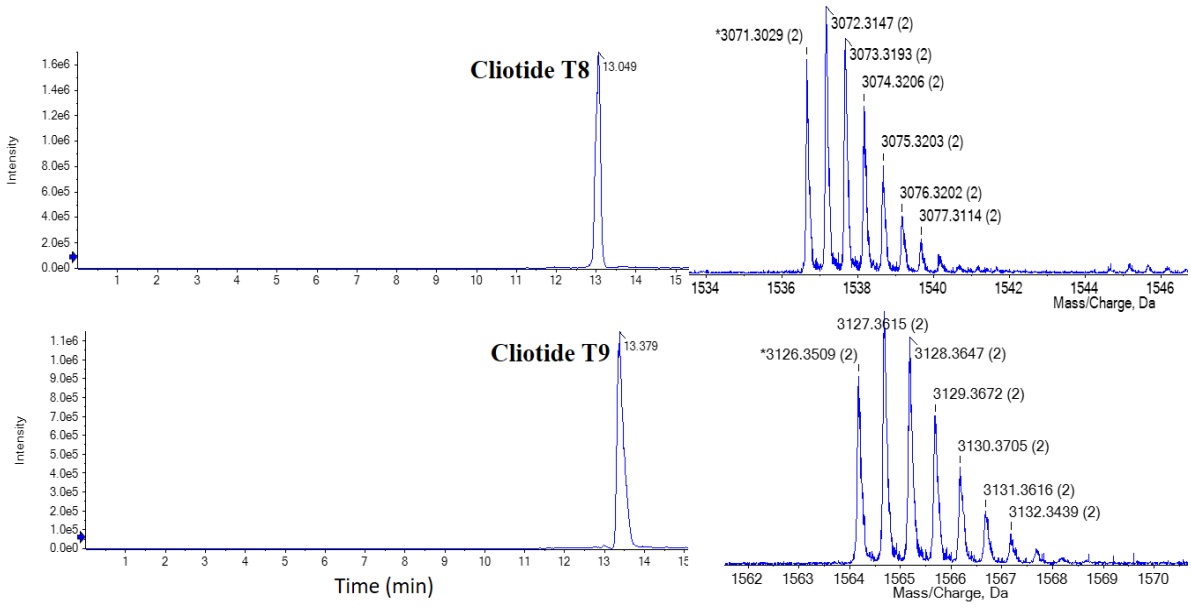
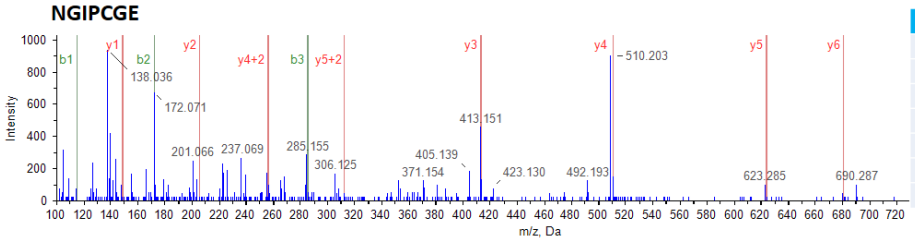


Figure 5. LC-MS of cyclotides cliotide T8 and cliotide T9

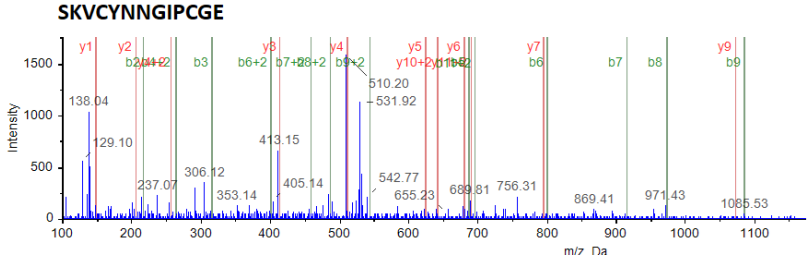
Prior to sequencing, the cyclotides underwent reduction, alkylation, and enzymatic cleavage. Table 1 displays the linear fragments linked to the cyclotides following cleavage. The mass spectra of each peptide were rigorously examined, and the sequences were determined through the identification of both b and y ion chains (N- and C-terminal fragment ions). Figure 6 and Table 1 illustrate the MS/MS spectra of several fragments from two cyclotides, cliotide T8 and cliotide T9. Representative examples of the two specimens were NGIPCGE and SKVCYNNGIPCGE, which displayed numerous b and y ions; the ions were arranged in sequence, validating the precise identification of the two cyclotides. The final sequence was created by integrating the MS/MS sequencing data with analysis from the ProteinPilot search database and cyclotide data (https://www.cybase.org.au/).

Table 1. MS/MS data of fragments from two cyclotides, cliotide T8 and T9. Obs: observed; conf: confidency; Theor: theoreutical. E: endo GluC; TE: a mixture of endo GluC and trypsin.

Obs MW	Obs m/z	Obs z	Best Sequence	Conf	Theor MW	Enzyme
3726.76	622.13	6	SCVFIPCISSVVGCSCKSKVCYNNGIPCGE	99	3725.72	E
3781.79	631.31	6	SCVFIPCLTTVVGCSCKNKVCYNNGIPCGE	99	3780.76	E
1592.73	531.92	3	SKVCYNNGIPCGE	99	1592.71	TE
2151.01	538.76	4	SCVFIPCISSVVGCSCK	99	2151.02	TE
3726.71	622.13	6	SKVCYNNGIPCGESCVFIPCISSVVGCSCK	99	3725.72	T
3538.62	590.78	6	VCYNNGIPCGESCVFIPCLTTVVGCSCK	99	3538.62	T
793.34	397.68	2	NGIPCGE	99	793.34	TE



Residue	b	y	y+2
N	115.0502		
G	172.0717	680.3072	
I	285.1557	623.2858	312.1465
P		510.2017	255.6045
C[Pye]		413.1489	
G		205.0819	
E		148.0604	



Residue	b	b+2	y	y+2
S				
K	216.1343			
V	315.2027			689.7996
C[Pye]		262.1385		640.2654
Y	686.333		1071.456	
N	800.376	400.6916		
N	914.4189	457.7131	794.3502	
G	971.4404	486.2238	680.3072	
I	1084.524	542.7659	623.2858	
P			510.2017	255.6045
C[Pye]		695.3258	413.1489	
G			205.0819	
E			148.0604	

Figure 6. MS/MS profiles of the two fragments NGIPCGE and SKVCYNNGIPCGE. Sequencing the fragments produced by enzyme digestion of reduced and alkylated peptides using a combination of endo GluC and trypsin

3.2.4. Determination of antibacterial activity by agar well diffusion method

The samples from the three processes, comprising both extracts and precipitates, had minimal activity against *E. coli* and *S. aureus*. The extract demonstrated antibacterial efficacy against *P. aeruginosa* and *L. ivanovii* at a concentration of 200 mg/mL, whereas the precipitates exhibited activity at 50 mg/mL (Figure 7, Table S1). The 50% ACN and ACN:EtOH:H_2O precipitates exhibited significant antibacterial activity. The peptide precipitates demonstrated significant antibacterial effectiveness, with the concentration of the precipitate being four times lower than that of the extract sample. The inhibition zones for *P. aeruginosa* were comparable, with the 50% ACN measuring 15.933±1.320 mm and the ACN:EtOH:H_2O precipitate measuring 15.400±0.557 mm. For *L. ivanovii*, the ACN:EtOH:H_2O precipitate (17.267±1.201 mm) exhibited a greater inhibitory zone compared to the 50% ACN precipitate (15.200±0.173 mm). Nonetheless, the antibacterial activity of the 50% EtOH precipitate was the least effective. The 50% ACN and ACN:EtOH:H_2O methods are suitable for the extraction of cyclotides from *C. ternatea*.

Figure 4 illustrates that extraction with 50% acetonitrile (ACN) yielded the highest protein/peptide concentration, closely followed by the ACN:EtOH:H_2O mixture. The antibacterial efficacy of both precipitates demonstrated minimal variation when evaluated against the inhibition zone. The use of green solvents is essential in peptide research and production, involving strategies to reduce and recycle solvents while addressing environmental and health impacts. Acetonitrile is classified as hazardous, whereas ethanol is advised for

improving the sustainability of pharmaceutical manufacturing.[44] The combination of ACN, ethanol, and miliQ-water effectively extracted peptides with significant antibacterial activity, while minimizing the use of the toxic solvent ACN. The total protein concentration of the 50% ACN approach exceeded that of the ACN:EtOH:H_2O method; however, their antibacterial properties were not significantly different. This study introduced a novel extraction process, ACN:EtOH:H_2O, characterized by significant antibacterial efficacy while utilizing reduced amounts of ACN to promote environmental sustainability.

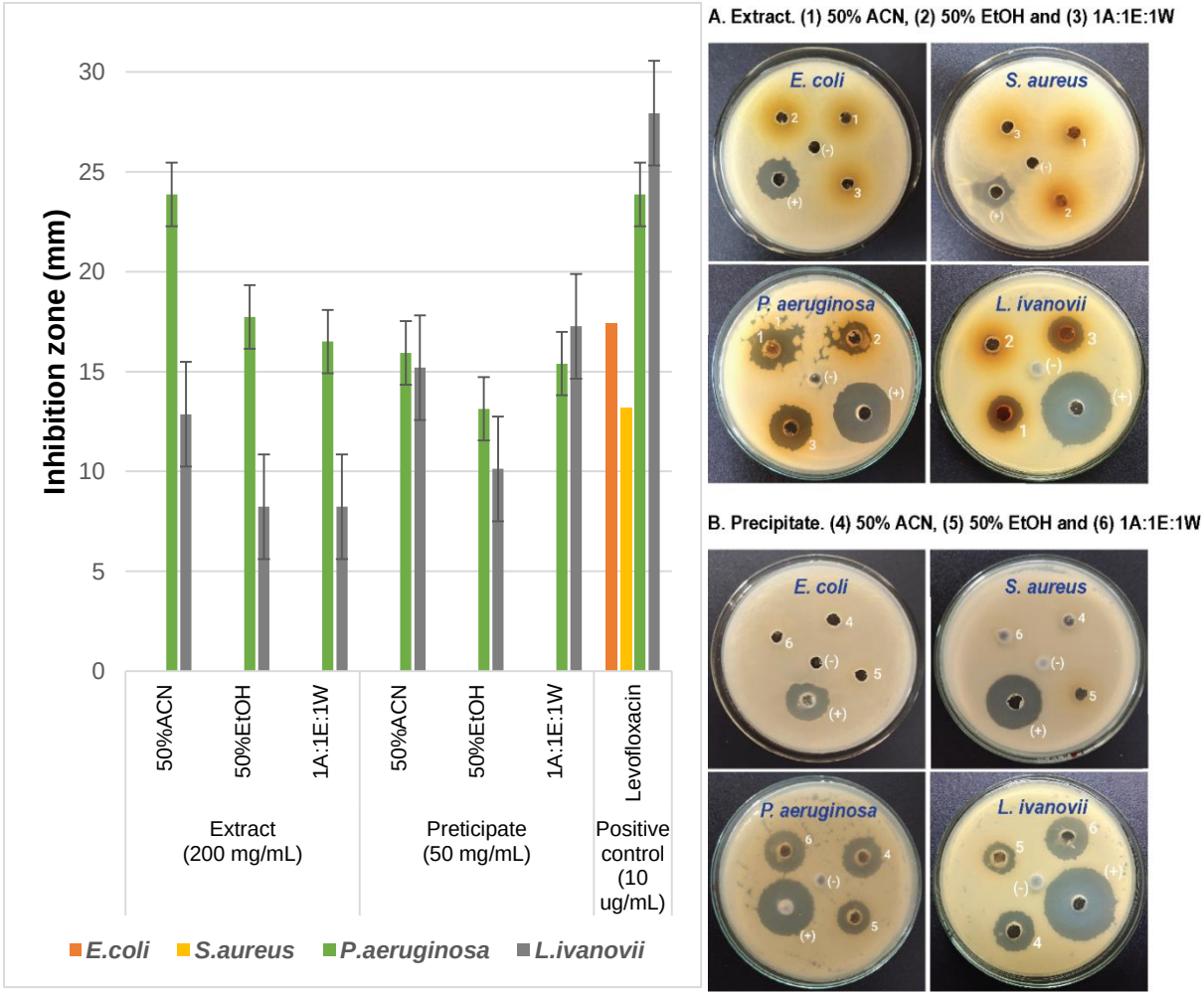


Figure 7. Antibacterial inhibition zones of *C. ternatea* extracts and precipitates against strains of *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, and *L. ivanovi*. The statistics shown are the mean of three replicates

3.2.5. Determination of antifungal activity by agar well diffusion method

Aspergillus infections have recently become increasingly important due to the emergence of various common clinical syndromes associated with *Aspergillus flavus*. These include chronic granulomatous sinusitis, keratitis, cutaneous aspergillosis, wound infections, and osteomyelitis following trauma and vaccination.[45] *A. flavus* also infects agricultural crops and stored grains, producing highly toxic and potent carcinogenic metabolites, including aflatoxins and other mycotoxins.[46] Upon comparison of the precipitate and extract samples, the precipitate sample exhibited a higher protein/peptide content (Figure 4). The antibacterial results indicated that the precipitate exhibited antibacterial activity even at low concentrations. The antifungal activity test was conducted exclusively with the precipitate sample, as it contained numerous peptides with significant potential to combat highly toxic fungi. Table 2 and Figure S2 presents the antifungal results against *A. flavus* for all three extraction methods at a test concentration of

100 mg/mL. The 50% ACN precipitate was the sole sample that exhibited susceptibility to fungi. The inhibition zones observed for the ACN:EtOH:H_2O and 50% ACN precipitates were comparable and did not show significant differences. In conclusion, the ACN:EtOH:H_2O and 50% ACN precipitates both exhibited the presence of peptides capable of inhibiting or eliminating fungi responsible for diseases in humans and plants. Consequently, the ACN:EtOH:H_2O extraction method was shown to exhibit no significant variation in biological activity relative to the 50% ACN extraction approach.

Table 2. Inhibition zones observed against *A. flavus* using *C. ternatea* precipitates

Precipitation samples	Inhibition zone (mm)
50% EtOH	N.I
50% ACN	13.433±0.945
1A:1E:1W	10. 833±0.404
Negative control (PBS)	N.I
Positive control (Ketoconazole)	22.333±0.751

Note: N.I: No inhibition.

3.2.6. Determination of minimum inhibitory concentrations (MIC)

Cyclotides, despite being larger molecules than conventional antibiotics, often exhibit MIC that align with the standard breakpoint criteria for antibiotic efficacy as determined by the standard broth dilution assay. Specifically, values below 4 µg/mL (13-14 µM) indicate susceptibility in bacteria, while concentrations below 32 µg/mL (100-110 µM) suggest intermediate antibacterial activity.[40,47,48] Although the sequences of cliotide T8 and cliotide T9 were previously disclosed, there have been no studies about the activity of these two cyclotides.[30,49] This work involved the isolation and evaluation of cliotide T8 and cliotide T9 for their MICs against two strains of *P. aeruginosa* and *L. ivanovii*.The results are presented in Figure 8 and S3. Cliotide T8 and cliotide T9 demonstrated significant anti-*L. ivanovii* activity,

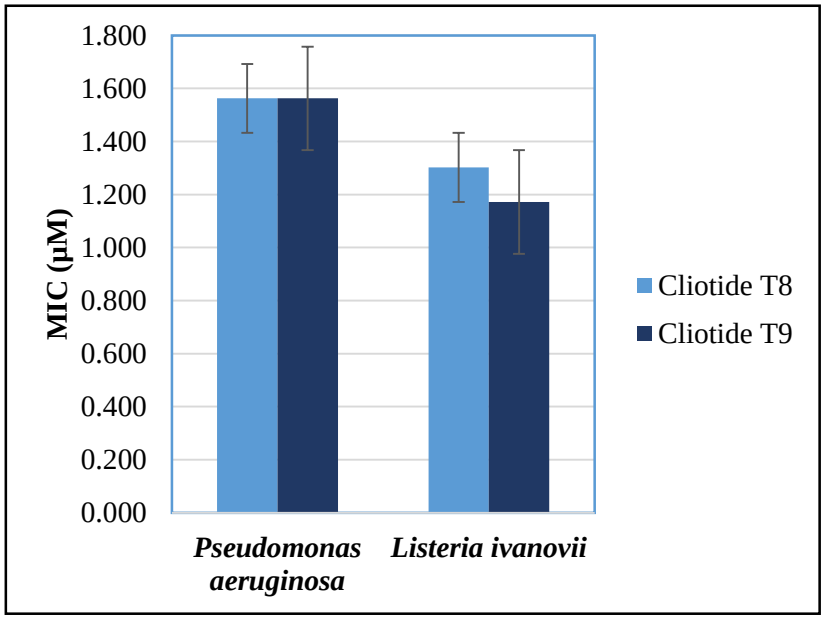


Figure 8. The graph displays the MIC values (µM) for cliotide T8 and cliotide T9. The data presented reflects the average of three replicates

exhibiting MIC values of 1.302 µM and 1.172 µM, respectively, which are superior to that of *P. aeruginosa*. The MIC values for *P. aeruginosa* for both cliotide T8 and cliotide T9 were identical at 1.563 µM. The MIC values for *P. aeruginosa* for cliotide T8 and cliotide T9 were found to be lower than those of a new cyclotides derived from *Geophila repens* of the Rubiaceae family, with values ranging from 7-16 µM.[50] Cliotide T8 and cliotide T9 demonstrate potential as peptides exhibiting significant antibacterial activity. The purification of cliotide T8 and cliotide T9 through multiple rounds of RP-HPLC resulted in a significant enhancement of pharmacological activity when compared to the extract and precipitates. The peptide sample is regarded as having potential applications in antibiotics for both humans and animals.

4. CONCLUSION

This study presented the ACN:EtOH:H_2O approach as a relative extraction methodology, aiding environmental conservation by minimizing the use of ACN. The compounds were purified by repeated RP-HPLC, and analyzed by LC-MS/MS to identify two known cyclotides. Cliotides T8 and T9 were extracted and evaluated for their antibacterial activity. All demonstrated activity against *P. aeruginosa* and *L. ivanovii*, with MIC values between 1 and 1.6 µM.

Acknowledgements. This work was funded by Vietnam Academy of Science and Technology under grant number: CSCL19.02/25-26.

Author contributions. All authors performed experimental research, wrote the manuscript, and prepared the figures. T.T.D. provided scope, guidance and critically reviewed the manuscript.

Conflict of interest. The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

REFERENCES

1. Nawrot R. et al. Plant antimicrobial peptides, *Folia Microbiol.* (Praha), **2014**, *59*(3), 181-196.
2. Yount N. Y., M. R. Yeaman. Peptide antimicrobials: cell wall as a bacterial target, *Ann N Y Acad. Sci.*, **2013**, *1277*, 127-138.
3. Lay F. T., M. A. Anderson. Defensins-components of the innate immune system in plants, *Curr. Protein Pept. Sci.*, **2005**, *6*(1), 85-101.
4. Lai Y., R. L. Gallo. AMPed up immunity: how antimicrobial peptides have multiple roles in immune defense, *Trends. Immunol.*, **2009**, *30*(3), 131-141.
5. Jagadish K., J. A. Camarero. Cyclotides, a promising molecular scaffold for peptide-based therapeutics, *Biopolymers*, **2010**, *94*(5), 611-616.
6. Gia-Hoa Tran, Thi-Huyen Tran, Son H. Pham, Huy Luong Xuan, Tien T. Dang. Cyclotides: The next generation in biopesticide development for eco-friendly agriculture, *J. Pept. Sci.*, **2024**, *30*(6), e3570.
7. Craik D. J. et al. Plant cyclotides: A unique family of cyclic and knotted proteins that defines the cyclic cystine knot structural motif, *J. Mol. Biol.*, **1999**, *294*(5), 1327-1336.
8. Thao N. T. Ho, Son H. Pham, Linh T. T. Nguyen, Ha T. Nguyen, Luan T. Nguyen, Tien T. Dang. Insights into the synthesis strategies of plant-derived cyclotides, *Amino Acids.*, **2023**, *55*(6), 713-729.

9. Nguyen U. N. P. et al. Cyclotides Versus Acyclotides: Discovery, Characterization and Their Potential in Cancer Therapy, *Chemistry Select*, **2024**, *9*(30), e202400386.
10. Daly N. L., K. R. Gustafson, D. J. Craik. The role of the cyclic peptide backbone in the anti-HIV activity of the cyclotide kalata B1, *FEBS Lett*, **2004**, *574*(1-3), 69-72.
11. Colgrave M. L., D. J. Craik. Thermal, chemical, and enzymatic stability of the cyclotide kalata B1: the importance of the cyclic cystine knot, *Biochemistry*, **2004**, *43*(20), 5965-5975.
12. Bogdanowich-Knipp S. J. et al. Solution stability of linear vs. cyclic RGD peptides, *J. Pept. Res.*, **1999**, *53*(5), 530-541.
13. Camarero J. A. Cyclotides, a versatile ultrastable micro-protein scaffold for biotechnological applications, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2017**, *27*(23), 5089-5099.
14. Álvarez C. A. et al. Chemical Synthesis and Functional Analysis of VarvA Cyclotide, *Molecules*, **2018**, *23*(4).
15. Craik D. J., S. Simonsen, N. L. Daly. The cyclotides: novel macrocyclic peptides as scaffolds in drug design, *Curr Opin Drug Discov Devel*, **2002**, *5*(2), 251-260.
16. Saether O. et al. Elucidation of the primary and three-dimensional structure of the uterotonic polypeptide kalata B1, *Biochemistry*, **1995**, *34*(13), 4147-4158.
17. Wong C.T. et al. Orally active peptidic bradykinin B1 receptor antagonists engineered from a cyclotide scaffold for inflammatory pain treatment, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2012**, *51*(23), 5620-5624.
18. Jennings C. et al. Biosynthesis and insecticidal properties of plant cyclotides: the cyclic knotted proteins from *Oldenlandia affinis*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2001**, *98*(19), 10614-10619.
19. Gran, L. Oxytocic principles of *Oldenlandia affinis*, *Lloydia*, **1973**, *36*(2), 174-178.
20. Gustafson K. R., T. C. McKee, H. R. Bokesch. Anti-HIV cyclotides, *Curr. Protein Pept. Sci.*, **2004**, *5*(5), 331-340.
21. Tam J. P. et al. An unusual structural motif of antimicrobial peptides containing end-to-end macrocycle and cystine-knot disulfides, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1999**, *96*(16), 8913-8918.
22. Svangård E. et al. Cytotoxic cyclotides from *Viola tricolor*, *J. Nat. Prod.*, **2004**, *67*(2), 144-147.
23. Wang C. K. et al. Anti-HIV cyclotides from the Chinese medicinal herb *Viola yedoensis*, *J. Nat. Prod.*, **2008**, *71*(1), 47-52.
24. Gould A., J. A. Camarero. Cyclotides: Overview and Biotechnological Applications, *Chembiochem*, **2017**, *18*(14), 1350-1363.
25. Huynh N. T. et al. Immunosuppressive Cyclotides: A Promising Approach for Treating Autoimmune Diseases, *Protein J.*, **2024**, *43*(2), 159-170.
26. Rosengren K. J., et al. Twists, knots, and rings in proteins. Structural definition of the cyclotide framework, *J Biol Chem.*, **2003**, *278*(10), 8606-1866.
27. Felizmenio-Quimio M. E., N. L. Daly, D. J. Craik. Circular proteins in plants: solution structure of a novel macrocyclic trypsin inhibitor from *Momordica cochinchinensis*, *J. Biol. Chem.*, **2001**, *276*(25), 22875-22882.

28. Gruber C. W. et al. Distribution and evolution of circular miniproteins in flowering plants, *Plant. Cell.*, **2008**, *20*(9), 2471-2483.

29. Conzelmann C. et al. *In vitro* Inhibition of HIV-1 by Cyclotide-Enriched Extracts of *Viola tricolor*, *Front Pharmacol.*, **2022**, *13*, 888961.

30. Nguyen G. K. et al. Discovery and characterization of novel cyclotides originated from chimeric precursors consisting of albumin-1 chain a and cyclotide domains in the Fabaceae family, *J Biol Chem*., **2011**, *286*(27), 24275-24287.

31. Troeira Henriques S., D. J. Craik. Cyclotide Structure and Function: The Role of Membrane Binding and Permeation, *Biochemistry*, **2017**, *56*(5), 669-682.

32. Nguyen K. N. et al. Immunostimulating and Gram-negative-specific antibacterial cyclotides from the butterfly pea *(Clitoria ternatea), Febs. J.*, **2016**, *283*(11), 2067-2090.

33. Dang T. T. et al. Characterization of cyclotides Mra30 and cycloviolacin O17 derived from *Viola dalatensis Gadnep, Archives of microbiology*, **2024**, *206*(10), 396.

34. Dang T. T. et al. Cyclotides derived from *Viola dalatensis* Gagnep: A novel approach for enrichment and evaluation of antimicrobial activity, *Toxicon*, **2024**, *239*, 107606.

35. Berkow E. L., S. R. Lockhart, L. Ostrosky-Zeichner. Antifungal Susceptibility Testing: Current Approaches, *Clin. Microbiol. Rev.*, **2020**, *33*(3).

36. Tam T. T. Tran, Gia-Hoa Tran, Son T. Cu, Son H. Pham, Tuan H. N. Nguyen, Tien T. Dang. Cyclotides, Cyclic Peptides Derived from *Clitoria ternatea* Linn Mature Pods, Hold Promise as Potential Antimicrobial Agent, *ChemistrySelect*, **2023**, *8*(47), e202303969.

37. Farhadpour M. et al. Microwave-assisted extraction of cyclotides from *Viola ignobilis, Anal Biochem*, **2016**, *497*, 83-89.

38. Nguyen G. K. et al. Discovery of a linear cyclotide from the bracelet subfamily and its disulfide mapping by top-down mass spectrometry, *J. Biol. Chem.*, **2011**, *286*(52), 44833-44844.

39. Du Q. et al. Discovery and mechanistic studies of cytotoxic cyclotides from the medicinal herb *Hybanthus enneaspermus, J. Biol. Chem.*, **2020**, *295*(32), 10911-10925.

40. Gilding E. K. et al. Gene coevolution and regulation lock cyclic plant defence peptides to their targets, The New phytologist, **2016**, *210*(2), 717-730.

41. Poth A. G. et al. Discovery of an unusual biosynthetic origin for circular proteins in legumes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2011**, *108*(25), 10127-10132.

42. Poth A. G. et al. Discovery of cyclotides in the fabaceae plant family provides new insights into the cyclization, evolution, and distribution of circular proteins, *ACS Chem. Biol.*, **2011**, *6*(4), 345-355.

43. Santa-Coloma T. A., M. A. Bley, E. H. Charreau. Improvement on the competitive binding assay for the measurement of cyclic AMP by using ammonium sulphate precipitation, *Biochem J*, **1987**, *245*(3), 923-924.

44. Ferrazzano L. et al. Sustainability in peptide chemistry: current synthesis and purification technologies and future challenges, *Green Chem.*, **2022**, ***24***, 975-1020.

45. Hedayati M. T. et al. Aspergillus flavus: human pathogen, allergen and mycotoxin producer, *Microbiology (Reading)*, **2007**, *153*(Pt6), 1677-1692.

46. Yu J. et al. Aspergillus flavus genomics: gateway to human and animal health, food safety, and crop resistance to diseases, *Rev. Iberoam. Micol.*, **2005**, *22*(4), 194-202.

47. Serra A. et al. A high-throughput peptidomic strategy to decipher the molecular diversity of cyclic cysteine-rich peptides, *Sci. Rep.*, **2016**, *6*, 23005.

48. Strömstedt A. A. et al. Bactericidal activity of cyclotides where phosphatidylethanolamine-lipid selectivity determines antimicrobial spectra, *Biochim. Biophys. Acta. Biomembr.*, **2017**, *1859*(10), 1986-2000.

49. Kalmankar N. V. et al. Transcriptomic profiling of the medicinal plant Clitoria ternatea: identification of potential genes in cyclotide biosynthesis, *Sci. Rep.*, **2020**, *10*(1), 12658.

50. Rajendran S. et al. Screening for Cyclotides in Sri Lankan Medicinal Plants: Discovery, Characterization, and Bioactivity Screening of Cyclotides from *Geophila repens*, *Journal of Natural Products*, **2022**, *86*, 52-65.

Corresponding author: **Tien T. Dang**
Institute of Applied Materials Science
Vietnam Academy of Science and Technology
1B, TL29, District 12, Ho Chi Minh City, Vietnam
Email: dttien@iams.vast.vn.

SPECIES DIVERSITY AND ESSENTIAL OIL POTENTIAL OF MINT SPECIES (LAMIACEAE) IN THE CENTRAL HIGHLANDS

Tran Thai Vinh, Nong Van Duy, Vu Kim Cong, Dang Thi Tham, Quach Van Hoi*

Taynguyen Institute for Scientific Research, Vietnam Academy of Science and Technology, 116, Xo Viet Nghe Tinh, Ward 7, Da Lat, Lam Dong, Vietnam

Received 10 Feb 2025; Revised 20 Feb 2025; Accepted 1 Mar 2025

Abstract

Lamiaceae species are aromatic due to essential oils from plant parts. The essential oils have great value in natural medicine, pharmacology, cosmetology, and aromatherapy. However, species in this family have not been investigated, collected and evaluated in the Central Highlands. By surveying and combining available literature research, the study identified 44 species belonging to 27 genera of the Lamiaceae family distributed in the Central Highlands. The distribution locations and ecology of the species were updated. The main essential oil components of 13 potential species were summarized. This study is the first to gather the species composition, main essential oil components and biological activities for Lamiaceae species in Central Highlands.

Keywords: Biological activities, distribution, ecology, essential oil, Lamiaceae.

1. INTRODUCTION

The Mint family or Lamiaceae contains herbs, sometimes subshrubs or shrubs, annual or perennial, usually aromatic plants. In the family are approximately 3500 species in 220 genera, distributed worldwide, but mostly in the Mediterranean region and Southwest Asia.[1] In Vietnam, the family has about 131 species and 44 genera. Many of these species are aromatic plants used as spices and traditional medicinal uses.[2] Key research findings highlight the chemical composition, biological activities, and potential applications of essential oils extracted from various species in this family.[3] Many substances are extracted from essential oils of the Lamiaceae family. Among them, the chemical constituents commonly found in species of the Lamiaceae family include β-caryophyllene, linalool, limonene, β-pinene, 1,8-cineole, carvacrol, α-pinene, p-cymene, γ-terpinene and thymol.[4] Other studies have also shown that the pharmacological activities of essential oils of the Lamiaceae family have been reported: antimicrobial, antistress, anti-inflammatory, antiarthritic, antiulcer, antidiabetic, antihyperlipidemic, antihypertensive, cardioprotective, antifertility, antioxidant, anthelmintic, antitussive, anticoagulant, anticataract, chemoprotective, hepatoprotective, immunomodulatory, radioprotective, memory enhancing and antinociceptive activities.[6,7] As a trend, in Vietnam, species with medicinal potential of the Lamiaceae family are also studied [3,8,16]. However, a study on the collection and potential for essential oils of Lamiaceae species in Central Highlands has not been conducted. Central Highlands includes high mountains and cool climate suitable for the growth and development of species of the Lamiaceae family. Many species of this family are commonly cultivated in Central Highlands. However, in the Central Highlands the species composition and essential oil value of wild species have not been collected. This study combines investigation, plant classification, and research of available documents to determine species composition and identify the essential oil components species in the Central Highlands area.

2. RESEARCH METHODS

Field survey method is conducted to collect samples and record the distribution locations of Lamiaceae species in the Central Highlands. Collected samples were classified based on the main documents including *An Illustrated Flora of Vietnam* and *Flora of China* to determine species composition. The authors also studied available documents related to the collected species to gather values, main essential oil components and main bioactivities.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Composition, distribution and ecology of Lamiaceae species in the Central Highlands

The study identified 44 species, 27 genera of the Lamiaceae family that are distributed in the Central Highlands. Details of species composition, genus, distribution location and ecology are given (Table 1). Many species in this family have been widely grown as spiced vegetables, ornamental plants and medicinal plants such as: *Elsholtzia ciliate, Lavandula angustifolia, Mentha spicata, Ocimum basilicum, Perilla frutescens, Salvia splendens.* Specifically, the family has 34 naturally occurring species. 10 species are cultivated as agricultural crops, of which 6 are introduced species and grown as ornamental and vegetables. The values of the Lamiaceae species are noted. 21 species have not been evaluated for their values (Table 1). Many species of the family have valuable for essential oil extraction. Of the 44 species, 13 were sampled, with noted distribution and ecology. These species were also examined for essential oil yield by the authors.

Table 1. List of species recorded in the Central Highlands and their values

No.	Species	Distributions	Values
1	*Anisochilus pallidus* Wall.	Lam Dong (Bao Loc)	Unknown
2	*Ceratanthus stolonifer* G. Taylor.	Kon Tum	Unknown
3	*Clinopodium gracilis* (Benth.) Matsum.	Lam Dong (Da Dat)	Unknown
4	*Colebrookea oppositifolia* Sm.	Dak Lak (Buon Me Thuat)	H
5	*Coleus amboinicus* Lour.	Commonly planted in the Central Highlands	H
6	*Colquhounia coccinea* Wall.	Lam Dong (Da Lat)	Unknown
7	*Colquhounia elegans* Wall.	Lam Dong (Da Lat)	Unknown
8	*Dysophylla pentagona* C.B. Cl.	Lam Dong (Da Lat)	Unknown
9	*Elsholtzia blanda* (Benth.) Benth.	Lam Dong (Da Lat, Lac Duong)	E
10	*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyland.	Lam Dong (cultivated in Da Lat)	E, V
11	*Elsholtzia winitiana* Craib.	Kon Tum, Lam Dong	E
12	*Euthralis peguana* (Prain.) Mur.	Lam Dong (Duc Trong)	Unknown
13	*Euthralis quadrifolia* (Roxb.) Mur.	Lam Dong (Di Linh)	Unknown
14	*Gomphostemma lucidum* Wall.	Lam Dong (Da Lat)	Unknown
15	*Gomphostemma niveum* Hook. f.	Kon Tum	Unknown
16	*Gomphostemma pedunculatum* Hook. f.	Gia Lai (An Khe)	Unknown
17	*Isodon lophanthoides* (D.Don) Hara.	Lam Dong (Da Lat)	H

No.	Species	Distributions	Values
18	*Lavandula angustifolia* Mill.	Lam Dong (imported plant, cultivated in Da Lat)	E, O
19	*Lenotis nepetifolia* (L.) R. Br.	Kon Tum	H
20	*Leucas mollissima* Benth. in Wall.	Lam Dong (Da Lat, Duc Trong)	Unknown
21	*Melissa axillaris* (Benth.) Bakh. f.	Lam Dong (Lac Duong)	Unknown
22	*Mentha arvensis* L.	Lam Dong (imported plant, cultivated in Da Lat)	V
23	*Mentha spicata* L.	Lam Dong (imported plant, cultivated in Da Lat)	V
24	*Mesona chinensis* Benth.	Lam Dong (imported plant, cultivated in Bao Loc)	V
25	*Ocimum basilicum* L.	Commonly planted in the Central Highlands	E, V
26	*Ocimum gratissimum* L.	Lam Dong (Da Lat, Lac Duong)	E
27	*Ocimum tenuiflorum* L.	Lam Dong (Lac Duong)	E
28	*Orthosiphon thymiflorus* (Roth.) Sleesen	Lam Dong	H
29	*Perilla frutescens* (L.) Britton.	Commonly planted in the Central Highlands	E, V
30	*Plectranthus coleoides* Benth.	Lam Dong (Di Linh)	O
31	*Pogostemon auricularia* (L.) Hassk.	Lam Dong (Da Lat)	Unknown
32	*Pogostemon litigiosus* Doan ex Suddee & A.J.Paton	Lam Dong (Da Lat, Di Linh)	Unknown
33	*Pogostemon parviflorus* Benth.	Lam Dong (Duc Trong)	H
34	*Pogostemon purpurascens* Dalz.	Lam Dong	H
35	*Premna vietnamensis* Bo Li	Gia Lai	Unknown
36	*Rhabdosia coetsa* (D.Don) Hara.	Lam Dong (Da Lat)	H
37	*Rhabdosia stracheyi* (Hook. f.)	Lam Dong (Da Lat)	Unknown
38	*Salvia rosmarinus* Spenn.	Lam Dong (imported plant, cultivated in Da Lat)	E, O, V
39	*Salvia splendens* Sellow ex Nees	Lam Dong (inported plant, cultivated in Da Lat)	E
40	*Scutellaria discolor* Benth.	Lam Dong (Da Lat, Di Linh)	Unknown
41	*Scutellaria indica* L.	Lam Dong (Duc Trong)	Unknown
42	*Scutellaria langbianensis* Vernh.	Lam Dong (Lac Duong)	Unknown
43	*Scutellaria orthocalyx* Hand.-Mazz.	Kon Tum	Unknown
44	*Teucrium quadrifarium* Buch.-Ham	Lam Dong (Da Lat)	H

Note: E - essential oil, H - Herbal medicine, O - Ornamental, V - Vegetables.

Details of the collected species that were examined for their essential oil potential

(1) Coleus amboinicus Lour. *Fl. Cochinch.: 372 (1790)*

Synonyms: *Coleus amboinicus* var. *violaceus* Gürke; *Coleus aromaticus* Benth.; *Coleus carnosus* Hassk.; *Coleus crassifolius* Benth.; *Coleus subfrutectosus* Summerh.

Specimens examined: VTN 24042301.

Distribution and ecology: The species is cultivated as a spice and medicinal plant in Da Lat city, Lam Dong province.

(2) Elsholtzia blanda (Benth.) Benth. *Labiat. Gen. Spec.: 162 (1833)*

Synonyms: *Aphanochilus blandus* Benth.; *Perilla elata* D.Don.

Specimens examined: VTN 23110502

Distribution and ecology: Species grows along the road in Dungk'no commune, under the canopy of pine forest in Lanbian mountain, Lac Duong district, Lam Dong province. Species lives in cool climates at altitudes above 1500 m.

(3) Elsholtzia ciliata (Thunb.) Hyl. *Bot. Not. 1941: 129 (1941)*

Synonyms: *Elsholtzia ciliata f. leucantha* T.Lee*; Elsholtzia ciliata* var. *brevipes* C.Y.Wu & S.C.Huang*; Elsholtzia ciliata* var. *depauperata* C.Y.Wu & S.C.Huang*; Elsholtzia ciliata* var. *duplicatocrenata* C.Y.Wu & S.C.Huang*; Elsholtzia ciliata* var. *minima* Nakai.

Specimens examined: VTN 24100201.

Distribution and ecology: Commonly cultivated as a spice plant in Da Lat, Lam Dong province. This species is grown in greenhouse or outdoor conditions.

(4) Elsholtzia winitiana Craib. *Bull. Misc. Inform. Kew 1918: 368 (1918)*

Synonyms: *Elsholtzia winitiana* var. *dongvanensis* Phuong.

Specimens examined: VTN 23112201

Distribution and ecology: The species grows under the canopy of pine forest in Da Lat city, Lam Dong province. The species' habitat is in cool climates at altitudes above 1500 m.

(5) Lavandula angustifolia Mill. *Gard. Dict., ed. 8. : n.° 2 (1768)*

Specimens examined: VTN 24021401

Distribution and ecology: Commonly cultivated in Da Lat city, Lam Dong province. This species is grown in greenhouse or outdoor conditions.

(6) Mentha arvensis L. *Sp. Pl.: 577 (1753)*

Synonyms: *Calamintha arvensis* (L.) Garsault; *Mentha acutifolia* var. *nummularia* (Schreb.) Boenn.; *Mentha agrestis* Hegetschw.; *Mentha agrestis* Sole; *Mentha agrestis* var. *subrotunda* Schur ex Heinr.Braun.

Specimens examined: VTN 24012301.

Distribution and ecology: Commonly cultivated in Da Lat city, Lam Dong province. The species grows well in humid and bright conditions.

(7) Mentha spicata L. *Sp. Pl.: 576 (1753).*

Specimens examined: VTN 23120201.

Distribution and ecology: Commonly cultivated in Da Lat city, Lam Dong province. The species grows well in humid and bright conditions.

(8) Ocimum basilicum L. *Sp. Pl.: 597 (1753)*

Specimens examined: VTN23041201.

Distribution and ecology: Commonly cultivated in Da Lat city as a spice plant, Lam Dong province. The species adapted to both greenhouse and outdoor conditions.

(9) Ocimum gratissimum L., *Sp. Pl. 1197(1753).*

Specimens examined: VTN 23112301, VTN 24051201, VTN 24102201.

Distribution and ecology: Me Linh commune, Lam Ha district; Hiep Thach commune, Duc Trong district; Đưng K'Nớ commune, Lac Duong district; Song Pha pass, Don Duong district, Lam Dong province. This species grows along roadsides, vacant lots, and along coffee gardens of local people, in moist soil conditions.

(10) Ocimum tenuiflorum L. *Sp. Pl.: 597 (1753)*

Synonyms: *Geniosporum tenuiflorum* (L.) Merr.; *Lumnitzera tenuiflora* (L.) Spreng.; *Moschosma tenuiflora* (L.) Heynh.; *Ocimum flexuosum* Blanco; *Ocimum hirsutum* Benth.; *Ocimum inodorum* Burm.f.; *Ocimum monachorum* L.

Specimens examined: VTN 23110501.

Distribution and ecology: Langbian mountain, Lac Duong district, Lam Dong province. This species grows under evergreen forest canopy, on moist ground.

(11) Perilla frutescens (L.) Britton. *Mem. Torrey Bot. Club 5: 277 (1894)*

Synonyms: *Ocimum frutescens* L.; *Perilla frutescens* var. *typica* Makino; *Perilla ocymoides* L.; *Perilla urticifolia* Salisb.

Specimens examined: VTN 23122201

Distribution and ecology: The species is commonly cultivated as a vegetables and medicinal plants in the greenhouse and outdoors in Da Lat city, Lam Dong province. The suitable habitat for the species is moist and moderate light conditions.

(12) Salvia splendens Sellow ex Nees. *Flora 4: 300 (1821)*

Synonyms: *Fenixanthes splendens* (Sellow ex Nees) Raf.; *Horminum splendens* (Sellow ex Nees) M.Gómez; *Jungia splendens* (Sellow ex Nees) Soják; *Salvia brasiliensis* Spreng.; *Salvia colorans* Benth.; *Salvia issanchou* Anon.

Specimens examined: VTN 24112001.

Distribution and ecology: The species is commonly cultivated as an ornamental plant in parks and along the roads in Da Lat city. The suitable habitat for the species is moist and bright conditions.

(13) Salvia rosmarinus Spenn. *Handb. Angew. Bot. 2: 447 (1835)*

Synonyms: *Rosmarinus angustifolius* Mill., *Rosmarinus communis* Noronha, *Rosmarinus flexuosus* Jord. & Fourr., *Rosmarinus latifolius* Mill., *Rosmarinus officinalis* L.

Specimens examined: VTN 24102401, VTN 24102402.

Distribution and ecology: The species is commonly cultivated as spice, ornamental and aromatic plants in Da Lat city. The suitable habitat for the species is moist and cool climate conditions.

3.2. Main components and biological activities of essential oils of Lamiaceae species in the Central Highlands

Many components in essential oils of species have been reported (Table 2). Among them, common components found in many species are β-Caryophyllene, 1,8-Cineole, Linalool, Limonene, Eugenol, Copaene, etc. Most of the essential oils of the collected species have antifungal and antibacterial activities. The essential oils of some species are used as insect repellents (Table 3). The study is only a collection of previous studies. Some of our studies have also evaluated the productivity of some species. In different natural or cultivation conditions, the essential oil composition of the species will be different. Therefore, more detailed studies on the productivity and essential oil composition of each species in the family in the Central Highlands are needed.

Table 2. Main components of essential oils of some potential species (Lamiaceae) in the Central Highlands

No.	Species	Main components of essential oils	References
1	*Coleus amboinicus* Lour.	β-Caryophyllene (4.20%), Carvacrol (13.25%), Thymol (41.3%), Methyl eugenol (2.10%), Terpinolene (3.75%), 1,8-Cineole (21.45%), β-Pinene (1.20%), α-Pinene (3.2%).	12
2	*Elsholtzia blanda* (Benth.) Benth.	Linalool (5.27%), Geraniol (3.77%), (E)-β-ocimene (2.96%), β-caryophyllene (1.75%), α-bergamotene (1.70%), (Z)-β-ocimene (1.38%), Acetophenone (1.13%), Linalyl acetate (1.11%)	18
3	*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl.	Dehydroelsholtzia ketone (78.28%), Elsholtzia ketone (14.58%), α-Caryophyllene (1.84%), Trans-α-Bergamotene (0.55%), α-Farnesene (0.66%)	19
4	*Elsholtzia winitiana* Craib.	1-Octen-3-ol (1.3%), (E)-β-Ocimene (1.3%), Rosefuran (65.0%), Linalool (1.1%), Elsholtzia ketone (87.5%), α-Dehydroelsholtzia ketone (1.6%), Dehydroelsholtzia ketone (22.8%), α-Humulene (3.6%)	23
5	*Lavandula angustifolia* Mill.	1,8-cineole (0-15%), limonene (0-0.5%); trans-β-ocimene (2-6%); cis-β-ocimene (4-10%), 3-octanone (0-2%), camphor (0-0.5%), linalool (25-38%), linalyl acetate (25-45%), terpinen-4-ol (2-6%)	4, 17
6	*Mentha arvensis* L.	α-pinene (1.28-1.91%), α-myrcene (0.67-2.03%), D-limonene (3.37-5.49%), I-menthone (18.81-21.06%), dI-menthol (53.62-59.38%), Menthyl acetate (4.88-7.84%), Creosol (7.3%), 3-methylthiazolidine (3.12%), Acenaphthylene (2.5%), Adrenalone (2.06%).	3
7	*Mentha spicata* L.	Pulegone (0.0-78.7%), Carvone (0.0-59.12%), Menthol (0.0-39%), Menthone (5.1-21.9%), Neomenthol (11.2%), Menthyl acetate (0.0-6.9%), Dihydrocarveol (0.0-6.27%), Limonene (1.0-5.8%), 1,8-Cineole (3.0-5.42%), cis-Dihydrocarvone (0.0-4.9%), cis-Carveol (0.0-3.9%), β-Caryophyllene	4

		(0.7-2.8%), β-Myrcene (0.3-2.3%)	
8	*Ocimum basilicum* L.	Methyl chavicol (0.0-57.3%), 1,8-Cineole (1.4-15.1%), Eugenol (0.0-12.32%), Linalool (18.0-68.0%), Geraniol (0.0-16.5%), p-Allylanisole (0.2-13.8%), Limonene (0.2-10.4%)	4, 15, 16
9	*Ocimum gratissimum* L.	Eugenol (80.38%), α-Cadinol (5.18%), Caryophyllene <b-> (3.31%), Cadinene <d-> (2.21%), Copaene <a-> (1.26%), Ethyl cinnamate (0.0-34.0%), Linalool (30.0-32.95%), 1,8-Cineole (6.5-21.91%), α-Bisabolene (0.0-17.19%), Camphor (3.8-11.97%), Thymol (0.0-9.8%).	8, 4
10	*Ocimum tenuiflorum* L.	Endo-borneol (1.92%), Eugenol (11.83%), α-Copaene (1.95%), β-Elemene (4.33%), Methyl eugenol (46.07%), Caryophyllene (15.65%), Humulene (1.63%), β-Copaene (4.18%), α-Selinene (1.02%), Guaia-1(10),11-dien (1.14%), β-Cadinene (1.32%), Caryophyllene oxide (3.18%), Neointermedeol (1.84%)	10
11	*Perilla frutescens* (L.) Britton.	Limonene (11.1%), Trans-shisool (1.01%), β-caryophyllene (4.98%), Germakcrene-D (1.29%), (Z,E)-alpha-Farnesene (4.48%), Linalool (3.12%), Perillaldehyde (67.22%),	14
12	*Salvia splendens* Sellow ex Nees	Octen-3-one (1.27%), Linalol (1.12%), Nonanal (1.19%), Homomirtenol (3.83%), α-Copaene (1.16%), β-Caryophyllene (2.90%), β-Cadinene (7.17%), Izoaromadendren (7.32%), Di-tertbutilbenzochinone (7.29%), α-Cadinol (1.02%), Oplopenone (8.53%), Izofilocladene (7.00%), Phytol (11.66%), Metil heneicozane (1.84%).	13
13	*Salvia rosmarinus* Spenn.	1,8-Cineole (23.14%), Camphor (12.35%), α-Pinene (9.87%), β-pinene (6.10%), Borneol (5.61%), Camphene (5.58%), α-Terpineol (4.30%)	28

Table 3. Main biological activities of essential oils of some potential species (Lamiaceae) in the Central Highlands

No.	Species	Main biological activities	References
1	*Coleus amboinicus* Lour.	Antidandruff	12
2	*Elsholtzia blanda* (Benth.) Benth.	Antimicrobial, active against the Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria and pathogenic yeast	22
3	*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl.	Antibacterial, antifungal, natural insecticides/fumigants for the control of insects	2, 20, 21

No.	Species	Main biological activities	References
4	*Elsholtzia winitiana* Craib.	Cancer, food poisoning, dog bite, measles, headache, cold	24
5	*Lavandula angustifolia* Mill.	Antibacterial, antifungal, carminative, sedative, antidepressive, effective for burns and insect bites	17
6	*Mentha arvensis* L.	Antibacterial, control moulds and insects	25, 26
7	*Mentha spicata* L.	Antioxidant, antibacterial	4
8	*Ocimum basilicum* L.	Antifungal	
9	*Ocimum gratissimum* L.	Antioxidant, anesthetic, fungicidal activity	8, 9
10	*Ocimum tenuiflorum* L.	Antioxidant, antifungal	10
11	*Perilla frutescens* (L.) Britton.	Antibacterial, antifungal	14, 15
12	*Salvia rosmarinus* Spenn.	Antioxidant, antimicrobial, antioxidant	27

4. CONCLUSION

The study identified 44 species, 27 genera of the Lamiaceae family that are distributed in the Central Highlands. Of these, 4 native species are cultivated as agricultural crops including: *Coleus amboinicus, Elsholtzia ciliata, Ocimum basilicum, Perilla frutescens*. 6 imported species are cultivated as agricultural crops including: *Lavandula angustifolia, Mentha arvensis, Mentha spicata, Mesona chinensis, Salvia rosmarinus, Salvia splendens*. 34 native species growing in the wild are potential sources of seedlings for essential oil production. The results of the study have also identified 2 wild species with high essential oil production *Ocimum gratissimum* and *Elsholtzia blanda*. Research is needed to introduce *Ocimum gratissimum* and *Elsholtzia blanda* into propagation and production as the potential agricultural crops. 13 species with essential oil potential were also examined, of which the essential oils of 12 species had biological activities.

REFERENCES

1. Hsi-Wen L., & Hedge I. C. Lamiaceae. *Flora of China*, **1994**, *17*, 50-299.
2. Pham-Hoang H. Lamiaceae. In: PhamHoang, H. (Ed.) An Illustrated Flora of Vietnam, vol. 2. *Youth Publishing House*, Ho Chi Minh City: 845-879, 1999.
3. Tran T. B., Nguyen H. T., Truong T. C., Phan M. B. X., Nguyen M. T. T., Hoang C. Q. Vu T. X. Evaluation of the chemical components and some bioactive compounds of the peppermint essential oil (*Mentha arvensis* L.) cultivated in Vietnam, *Version B of Vietnam Journal of Science and Technology*, **2021**, *63*(7), 26-30.
4. Karpiński T. M. Essential oils of Lamiaceae family plants as antifungals, *Biomolecules*, *10*(1), 103 (2020).
5. Uritu C. M., Mihai C. T., Stanciu G. D., Dodi G., Alexa-Stratulat T., Luca A., Leon-Constantin M. M., Stefanescu R., Bild V., Melnic S., Tamba, B. I. Medicinal plants of the

family Lamiaceae in pain therapy: A review. *Pain Research and Management,* **2018**, *2018*(1), 7801543, 44 pp.

6. Mahajan N., Rawal S., Verma M., Poddar M., Alok S. A phytopharmacological overview on Ocimum species with special emphasis on *Ocimum sanctum*, *Biomedicine & Preventive Nutrition*, **2013**, *3*(2), 185-192.
7. Snoussi M., Noumi E., Trabelsi N., Flamini G., Papetti A., De Feo V. *Mentha spicata* essential oil: chemical composition, antioxidant and antibacterial activities against planktonic and biofilm cultures of *Vibrio* spp. Strains, *Molecules,* **2015**, *20*(8), 14402-14424.
8. Hạnh NP., Bình NQ. & Thủy ĐT.T. Thành phần hóa học và hoạt tính chống oxi hóa của tinh dầu Hương nhu trắng (*Ocimum gratissimum* L.) trồng ở Hà Nội, Việt Nam, *TNU Journal of Science and Technology,* **2022**, *227*(14), 130-136.
9. Nakamura C. V., Ishida K., Faccin L. C., Dias Filho B. P., Cortez D. A. G., Rozental S., Souza W. D., Ueda-Nakamura T. *In vitro* activity of essential oil from *Ocimum gratissimum* L. against four Candida species. *Research in Microbiology*, **2004**, *155*(7), 579-586.
10. Luong T. H., Tran H. K. T., Jung W. J., Nguyen V. V., Nguyen D. M. C. Chemical constituents, antioxidant and antifungal activities of the essential oil from Vietnamese *Ocimum tenuiflorum* L. leaves. *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, **2024**, *66*(2), 69-75.
11. El-hawary S. S., El-sofany R. H., Abdel-Monem A. R., Ashour R. S., Sleem A. A. Seasonal variation in the composition of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng essential oil and its biological activities. *American Journal of Essential Oils and Natural Products,* **2013**, *1*(2), 11-18.
12. Selvakumar P. Studies on the antidandruff activity of the essential oil of *Coleus amboinicus* and *Eucalyptus globulus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, **2012**, *2*, S715-S719.
13. Pădure I. M., Burzo I., Mihăiescu D., Bădulescu L., Dobrescu A., elian E. Chemical constituents of the essential oils of eight species of *Salvia* L. (Lamiaceae) from Romania, *Acta Horti Bot. Bucurest*, **2008**, *35*.
14. Ahmed H. M., Al-Zubaidy A. M. A. Exploring natural essential oil components and antibacterial activity of solvent extracts from twelve *Perilla frutescens* L. Genotypes. *Arabian Journal of Chemistry,* **2020**, *13*(10), 7390-7402.
15. Özcan M., Chalchat J. C. Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. in Turkey, *Czech J. Food Sci,* **2002**, *20*(6), 223-228.
16. Pham T. H., Vu T. T. L., Vu T. D. Chemical composition and biological activities of Basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) in Thai Nguyen, *TNU Journal of Science and Technology*, **2023**, *228*(09), 169-174.
17. Smigielski K., Raj A., Krosowiak K., Gruska R. Chemical composition of the essential oil of *Lavandula angustifolia* cultivated in Poland, *Journal of Essential Oil Bearing Plants,* **2009**, *12*(3), 338-347.
18. Bestmann H. J., Rauscher J., Vostrowsky O., Pant A. K., Dev V., Parihar R., Mathela C. S. Constituents of the essential oil of *Elsholtzia blanda* Benth (Labiatae), *Journal of Essential Oil Research*, **1992**, *4*(2), 121-124 (1992).

19. Pudziuvelyte L., Stankevicius M., Maruska A., Petrikaite V., Ragazinskiene O., Draksiene G., Bernatoniene J. Chemical composition and anticancer activity of *Elsholtzia ciliata* essential oils and extracts prepared by different methods, *Industrial crops and products,* **2017**, *107*, 90-96.

20. Ping Zhao M., Chao Liu X., Lai D., Zhou L., Long Liu Z. Analysis of the essential oil of *Elsholtzia ciliate* aerial parts and its insecticidal activities against *Liposcelis bostrychophila*, *Helvetica Chimica Acta*, **2016**, *99*(1), 90-94.

21. Li F., Wang C., Xu J., Wang X., Cao M., Wang S., Pan S., Hu W. Evaluation of the antibacterial activity of *Elsholtzia ciliate* essential oil against halitosis-related *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis*, *Frontiers in Microbiology*, **2023**, *14*, 1219004.

22. Nguyen V. N., Hoang T. B. The antimicrobial activity and chemical composition of *Elsholtzia blanda* (Benth.) Benth. essential oils in Lam Dong Province, Vietnam. *CTU Journal of Innovation and Sustainable Development*, **2022**, *14*(3), 72-77.

23. Lesueur D., Bighelli A., Tam N. T., Than N. V., Dung P. T. K. & Casanova J. Combined analysis by GC (RI), GC/MS and 13C NMR spectroscopy of *Elsholtzia blanda*, *E. penduliflora* and *E. winitiana* essential oils. *Natural Product Communications*, **2007**, *2*(8), 857-861.

24. Chen S., Chen J., Xu Y., Wang X., Li J. *Elsholtzia*: a genus with antibacterial, antiviral, and anti-inflammatory advantages. *Journal of Ethnopharmacology*, **2022**, *297*, 115549.

25. Kumar A., Shukla R., Singh P., Singh A. K., Dubey N. K. Use of essential oil from *Mentha arvensis* L. to control storage moulds and insects in stored chickpea, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **2009**, *89*(15), 2643-2649.

26. Bokhari N., Perveen K., Al Khulaifi M., Kumar A. & Siddiqui I. In vitro antibacterial activity and chemical composition of essential oil of *Mentha arvensis* Linn. leaves. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, **2016**, *19*(4), 907-915.

27. Nieto G., Ros G., Castillo J. Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): A review, *Medicines*, **2018**, *5*(3), 98 (2018).

28. Tavassoli S. K., Mousavi S. M., Emam-Djomeh Z., Razavi S. H. Chemical composition and evaluation of antimicrobial properties of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil. *African Journal of Biotechnology*, **2011**, *10*(63), 13895-13899.

29. Hai D. V., Min D. Z., Khang N. S., Tan Y. H., Thoa P. T. K., Bramley G. L. C., et al. *Premna vietnamensis* (Lamiaceae, Premnoideae), a distinct new species from the Central Highlands of Vietnam, *PLoS ONE*, **2018**, *13*(5), e0195811.

Correspondence author: **Quach Van Hoi**
Tay Nguyen Institute for Scientific Research
Vietnam Academy of Science and Technology
116, Xo Viet Nghe Tinh, Ward 7, Da Lat, Lam Dong, Vietnam
Email: qvhoi@tni.vast.vn.

NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA MỘT SỐ DẪN XUẤT BENZAZOLE

Phạm Thị Làn[2], Lê Đức Long[1,2], Nguyễn Lê Anh[1,2], Ngô Quốc Anh[1*]

[1]Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

[2]Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

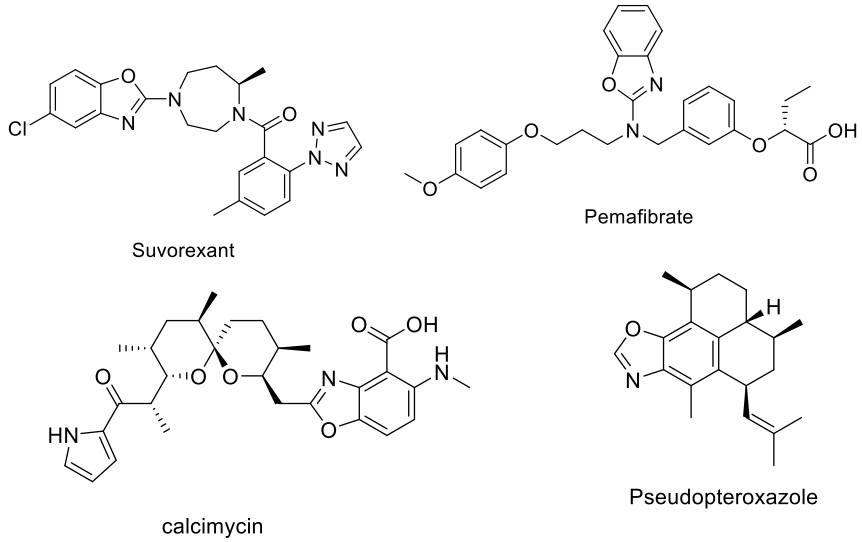
Tóm tắt

Hợp chất benzoxazole là một trong những hợp chất có nhiều hoạt tính sinh học thú vị. Các phương pháp tổng hợp đã được nghiên cứu trước đây đều thực hiện với những điều kiện phức tạp như trong môi trường axit mạnh, nhiệt độ cao hoặc với các xúc tác đắt tiền và qua nhiều bước phản ứng. Trong nghiên cứu này, bài báo đã báo cáo một phương pháp tổng hợp benzoxazole mới trong một bước phản ứng dưới điều kiện không dung môi, không chất xúc tác kim loại, sử dụng những nguyên liệu ban đầu có giá thành thấp. Khả năng tham gia phản ứng của các dẫn chất 2-aminothiophenol khác nhau đã được khảo sát và sản phẩm thu được với hiệu suất từ khá tới tuyệt vời. Chúng tôi đã tổng hợp được và đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO sáu dẫn xuất của benzoxazole.

Từ khóa: Benzoxazole, 2-nitrophenol, sulfur, isothiocyante.

1. MỞ ĐẦU

2-Aminobenzoxazoles được sử dụng rộng rãi trong hóa học hữu cơ trong nghiên cứu tổng hợp và dược phẩm. Độ ổn định của các hợp chất chứa khung benzoxazole cùng với độ bazơ đặc biệt của các nhóm 2-amino làm cho các dẫn xuất này trở thành chất trung gian để phát triển nhiều phân tử thuốc có hoạt tính sinh học (Sơ đồ 1). Ví dụ, Suvorexant (chất ức chế tyrosine kinase để điều trị bệnh ung thư).[1] Suvorexant AB2 gần đây đã được chấp thuận là một loại thuốc điều trị chứng mất ngủ.[2] Pemafibrate AB3 là một chất chủ vận thụ thể α hoạt hóa peroxisome (PPARα) mạnh được sử dụng cho chứng rối loạn lipid máu và các bệnh chuyển hóa.[3] AB4 là một chất hữu ích như các tác nhân miễn dịch trị liệu mới để điều trị bệnh lupus ban đỏ hệ thống và bệnh vẩy nến.



Hình 1. Các hợp chất chứa khung benzothiazol có tác dụng sinh học

2. THỰC NGHIỆM

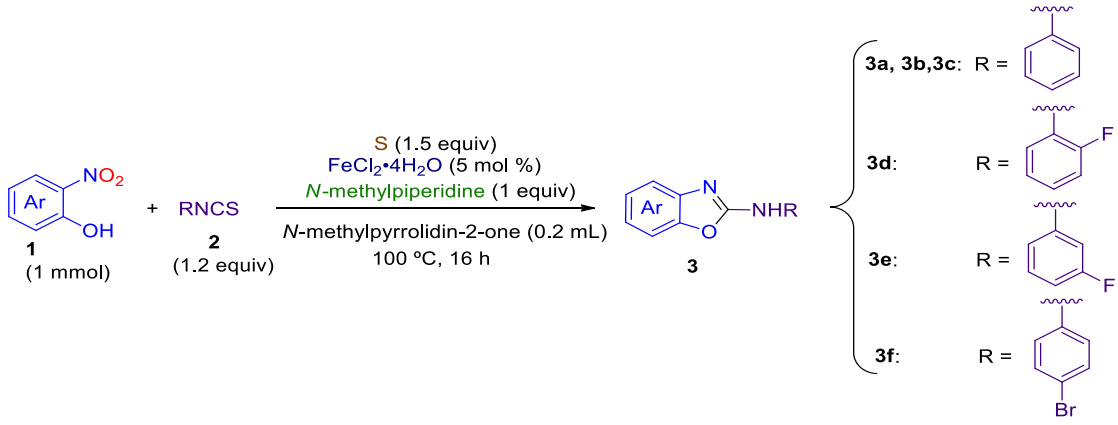
Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^{1}H-NMR (500 MHz) và ^{13}C-NMR (125 MHz) được đo trên máy Avance 500 (Bruker, CHLB Đức). Phổ IR được đo trên máy Impact-410-Nicolet. Phổ MS được đo trên máy SCIEX-X500R-QTOF-LC/MS. Các thiết bị trên là của Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Dòng tế bào RAW264.7 được nuôi cấy trong môi trường DMEM với thành phần kèm theo gồm 2 mM L-glutamine, 10 mM HEPES, và 1,0 mM sodium pyruvate, ngoài ra bổ sung 10% fetal bovine serum - FBS (GIBCO).

Tế bào được cấy chuyển sau 3-5 ngày với tỉ lệ (1:3) và nuôi trong tủ ấm CO_2 ở điều kiện 37 ^{o}C, 5% CO_2.

Quy trình chung

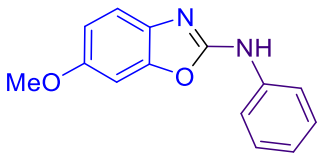
Tổng hợp các hợp chất **3a-3f** được thực hiện theo Sơ đồ 1. Hỗn hợp 2-nitrophenol1 (1 mmol), isothiocyanate 2 (1-1,2 mmol), lưu huỳnh (S) (1,5 mmol), *N*-methypiperidine (1 mmol), $FeCl_2.4H_2O$ (5 mol %), N-methylpyrrolidine-2-one (0,2 mL) được đun ở 100 ºC trong 16 giờ dưới điều kiện khí nitơ. Kết thúc phản ứng, hỗn hợp được tách bằng cột silica gel với hệ dung môi Hexane:EtOAc (v:v) (95:5).



Sơ đồ 1. Phương pháp tổng hợp các hợp chất benzoxazole (**3a-3f**)

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. 6-Methoxyl-*N*-phenylbenzo[*d*]oxazol-2-amine (3a)

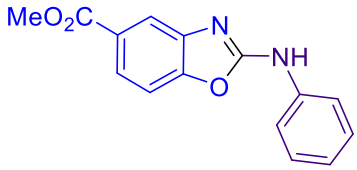


Tinh chế bằng cột silica gel (hexane:EtOAc 97:3) (137 mg, 57 %).

^{1}H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ 7,63-7,59 (m, 2H), 7,37-7,31 (m, 2H), 7,27 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,06-7,02 (m, 1H), 7,01 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 6,82 (dd, J = 8,6 Hz, J = 2,4 Hz, 1H), 3,81 (s, 3H).

^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD) δ 159,7, 157,6, 149,5, 140,1, 137,0, 130,1, 123,7, 119,3, 117,4, 111,7, 95,6, 56,5.

3.2. Methyl 2-(phenylamino)benzo[*d*]oxazole-5-carboxylate (3b)

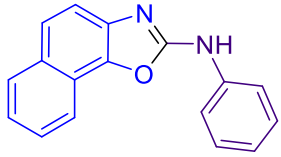


Tinh chế bằng cột silica gel (hexane:EtOAc 97:3) (150 mg, 56 %).

^{1}H NMR (7000 MHz, DMSO-d6) δ 10,96 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,88 (dd, J = 8,2 Hz, J = 1,3 Hz, 1H), 7,76 (d, J = 7,9 Hz, 2H), 7,51 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,39 (t, J = 7,9 Hz, 2H), 7,07 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d6) δ 166,0, 160,1, 147,3, 146,8, 138,1, 129,0, 126,0, 122,8, 122,7, 118,0, 116,0, 109,6, 52,0.

3.3. *N*-Phenylnaphtho[2,1- *d*]oxazol-2-amine (3c)

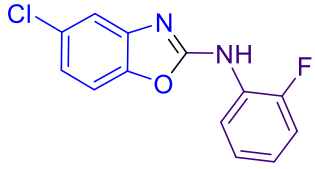


Tinh chế bằng cột silica gel (hexane:EtOAc 97:3) (55 mg, 21 %).

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO) δ 10,80 (s, 1H), 8,01 (t, J = 8,4 Hz, 2H), 7,82 (t, J = 8,1 Hz, 3H), 7,71 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,62 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 7,46 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,39 (t, J = 7,7 Hz, 2H), 7,03 (t, J = 7,3 Hz, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 157,9, 141,1, 138,9, 138,8, 129,5, 129,0, 128,8, 127,0, 124,5, 124,0, 121,9, 118,9, 118,5, 117,3, 117,2.

3.4. 5-Chloro-*N*-(2-fluorophenyl)benzo[*d*]oxazol-2-amine (3d)



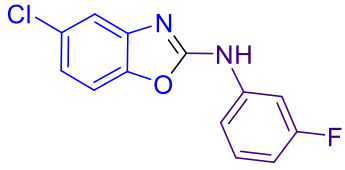
Tinh chế bằng cột silica gel (hexane:EtOAc 97:3) (135 mg, 52 %).

^{1}H NMR (7000 MHz, $CDCl_3$) δ 8,35-8,12 (m, 1H), 7,39 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,19-7,11 (m, 2H), 7,10-6,93 (m, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 158,3, 152,2 (d, J = 243,58 Hz), 146,4, 143,5, 129,8, 125,9 (d, J = 10,54 Hz), 124,9 (d, J = 3,74 Hz), 123,7 (d, J = 7.22 Hz), 122,2, 119,8, 117,7, 115,1 (d, J = 18,71 Hz), 109,7.

^{19}F NMR (282 MHz, $CDCl_3$) δ -131,97 (s).

3.5. 5-Chloro-*N*-(70-fluorophenyl)benzo[*d*]oxazol-2-amine (3e)



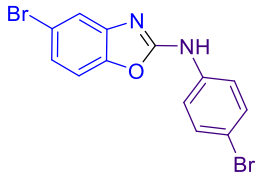
Tinh chế bằng cột silica gel (hexane:EtOAc 97:3) (137 mg, 52 %).

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d6) δ 11.01 (s, 1H, NH), 7,75-7,71 (m, 1H), 7,55-7,51 (m, 2H), 7,45-7,37 (m, 2H), 7,18-7,15 (m, 1H), 6,88-6,84 (m, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO-d6) δ 162,5 (d, J = 241,46 Hz), 158,7, 144.7 (d, J = 263,79 Hz), 140,1 (d, J = 11,40 Hz), 130,6 (d, J = 9,62 Hz), 128,3, 121,6, 116,6, 113,7, 113,7, 110,2, 108,8 (d, J = 21,13 Hz), 104,6 (d, J = 26,97 Hz).

^{19}F NMR (282 MHz, $CDCl_3$) δ -110,7.

3.6. 5-Bromo-*N*-(4-bromophenyl)benzo[*d*]oxazol-2-amine (3f)



Tinh chế bằng cột silica gel (hexane:EtOAc 97:3) (151 mg, 41 %).

^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d6) δ 10.93 9s, 1H, NH), 7,72-7,70 (m, 2H), 7,65 (d, J = 2.00 Hz, 1H), 7,58-7,56 (m, 2H), 7,48 (d, J = 8,42 Hz, 1H), 7,30 (dd, J = 8,44, 2,01 Hz, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO-d6) δ 159,1, 146,7, 144,7, 138,2, 132,2, 124,8, 120,2, 119,7, 116,5, 114,5, 111,2.

4. KHẢO SÁT HOẠT TÍNH ỨC CHẾ SẢN SINH NO

Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế sản sinh NO của các hợp chất tổng hợp được (Bảng 1).

Bảng 1. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO của 6 hợp chất (**3a-3f**)

Hợp chất	**Ức chế sản sinh NO** (IC_{50}, µM)
3a	32,01±1,78
3b	31,2±1,89
3c	26,42±1,35
3d	22,98±1,06
3e	24,16±1,25
3f	44,68±2,39
L-NMMA*	9,78±1,62

Kết quả trên cho thấy 6 hợp chất benzoxazole (**3a-3f**) đều cho khả năng ức chế trung bình lên sản sinh NO với giá trị IC_{50} từ 22,98±1,06 đến 44,68±2,39 µM, khi so sánh với chất chuẩn L-NMMA (IC_{50} 9,78±1,62 µM). Điều đáng chú ý, hai hợp chất **3d** và **3e** với khung benzoxazole chứa Cl tại vị trí C-5 cho hoạt tính mạnh nhất với IC_{50} lần lượt là 22,98±1,06 µM và 24,16±1,25 µM. Trong khi đó, hợp chất **3f** lại thể hiện hoạt tính yếu nhất (IC_{50} 44,68±2,39 µM) khi khung benzoxazole chứa nhóm Br. Có thể thấy rằng, khung benzoxazole với nhóm thế 5-Cl được đánh giá là khung triển vọng cần được nghiên cứu sâu hơn trong quá trình phát triển thuốc kháng viêm.

5. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã tổng hợp được 6 hợp chất benzoxazole đi từ *o*-nitrophenole và các dẫn xuất của thiocyanate với hiệu suất cao. Các hợp chất tổng hợp được (**3a-3f**) đều thể hiện hoạt tính hoạt tính ức chế sản sinh NO. Việc mở rộng, khảo sát các hoạt tính sinh học lý thú khác của các hợp chất này sẽ được thực hiện và công bố ở các công trình tiếp theo.

Lời cảm ơn. Tác giả trân trọng cảm ơn Viện Hàn lâm Khoa học Công nghệ Việt Nam đã tài trợ kinh phí để thực hiện công trình này (NCXS 01.02/24-26).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. M. Feng, B. Tang, S. H. Liang, X. Jiang. Sulfur containing scaffolds in drugs: synthesis and application in medicinal chemistry, *Curr. Top. Med. Chem*., **2016**, *16*, 1200-1216.
2. C. Lamberth, H. Walter, F. K. Murphy, L. Quaranta, R. Beaudegnies, S. Trah, A. Jeanguenata, F. Cederbaum. Synthesis and antiviral activity of novel α-aminophosphorus containing benzofuran moiety, *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.*, **2015**, *190*, 1225.
3. (a) D. J. Parker, H. A. Jones, S. Petcher, L. Cervini, J. M. Griffin, R. Akhtar, T. Hasell. Low cost and renewable sulfur-polymers by inverse vulcanisation, and their potential for mercury capture, *J. Mater. Chem*., **2017**, *5*, 11682-11692; (b) M. J. H. Worthington, R. L. Kucer, J. M. Chalker. Green chemistry and polymers made from sulfur, *Green Chem*., **2017**, *19*, 2748-2761.
4. (a) T. B. Nguyen. Recent advances in organic reactions involving elemental sulfur, *Adv. Synth. Catal*., **2017**, *359*, 1066-1130; (b) T. B. Nguyen. Elemental sulfur and molecular iodine as efficient tools for carbon-nitrogen bond formation through redox reactions, *Asian J. Org. Chem*., **2017**, *6*, 477-491.
5. D. L. Priebbenow, C. Bolm. Recent advances in the Willgerodt–Kindler reaction, *Chem. Soc. Rev*., **2013**, *42*, 7870-7880.
6. Z. Puterova, A. Krutosikova, D. Vegh. Gewald reaction: Synthesis, properties and applications of substituted 2-aminothiophenes, *ARKIVOC* **2010**, *2010*, 209-246.
7. (a) F. Asinger. Optisch aktives 2-phenyl-3,4-dimethyl-morpholin, *Angew. Chem*. 1956, **68**, 413; (b) F. Asinger. Prüfung und Verarbeitung von Arzneidrogen, *Angew. Chem*. 1956, **68**, 377; (c) I. Schlemminger, H. Janknecht, W. Maison, W. Saak, J. Martens. Synthesis of the first enantiomerically pure 3-thiazolines via Asinger reaction, *Tetrahedron Lett*., **2000**, *41*, 7289-7292.
8. (a) T. B. Nguyen, L. Ermolenko, A. Al-Mourabit. Nitro-methyl redox coupling: Efficient approach to 2-hetarylbenzothiazoles from 2-halonitroarene, methylhetarene, and elemental sulfur, *Org. Lett*., **2013**, *15*, 4218-4221; (b) T. B. Nguyen, P. Retailleau, L. Ermolenko, A. Al-Mourabit. Elemental sulfur disproportionation in the redox condensation reaction between o-halonitrobenzenes and benzylamines, *Angew. Chem., Int. Ed*. **2014**, *53*, 13808-13812; (c) T. B. Nguyen, K. Pasturaud, L. Ermolenko, A. Al-Mourabit. Concise access to 2-aroylbenzothiazoles by redox condensation reaction between o-halonitrobenzenes, acetophenones, and elemental sulfur, *Org. Lett*., **2015**, *17*, 2562-2565. For related studies, see: (d) T. Guntreddi, R. Vanjari, K. N. Singh. Elemental sulfur mediated decarboxylative redox cyclization reaction of o-chloronitroarenes and arylacetic acids, *Org. Lett*., **2015**, *17*, 976-978; (e) Y. Tong, Q. Pan, Z. Jiang, D. Miao, X. Shi, S. Han. A simple approach to benzothiazoles from 2-chloronitrobenzene, elemental sulfur, and aliphatic amine under solvent-free and catalyst-free conditions, *Tetrahedron Lett*., **2014**, *55*, 5499-5503.

Liên hệ: **Ngô Quốc Anh**
Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: ngoqanh@ich.vast.vn.

BÁO CÁO TỔNG QUAN HOẠT ĐỘNG NGHIÊN CỨU KHOA HỌC CỦA PHÒNG NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN DƯỢC PHẨM - VIỆN HÓA HỌC

Ngô Quốc Anh*, Nguyễn Lê Anh, Võ Ngọc Bình, Lê Đức Long, Phạm Tùng Lâm, Trần Thị Yến, Nguyễn Thị Thúy Hằng

Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

Phòng Nghiên cứu phát triển dược phẩm - Viện Hóa học được thành lập theo Quyết định số 466/QĐ-VHH ngày 01/8/2018 của Viện trưởng Viện Hóa học. Lĩnh vực nghiên cứu chính của đơn vị là "Thiết kế, tổng hợp các cấu trúc lai có hoạt tính sinh học kháng viêm, kháng ung thư; Nghiên cứu các phản ứng oxi hóa - khử mới có sử dụng lưu huỳnh để tổng hợp các hợp chất dị vòng; và Nghiên cứu chiết tách các hợp chất có hoạt tính sinh học có nguồn gốc từ thiên nhiên". Trải qua bảy năm xây dựng và phát triển, cùng với sự hợp tác với các nước như: Pháp, Ý, Phòng Nghiên cứu phát triển dược phẩm đã trở thành một đơn vị nghiên cứu hàng đầu trong lĩnh vực dược phẩm ở Việt Nam. Kết quả nghiên cứu của các nhà khoa học trong đơn vị làm cơ sở khoa học quan trọng cho việc phát triển thuốc chữa bệnh, góp phần chăm sóc sức khỏe cộng đồng, phát triển kinh tế - xã hội ở nước ta.

Từ khóa: Hoạt động nghiên cứu, Phòng nghiên cứu phát triển dược phẩm, Viện Hóa học.

1. MỞ ĐẦU

Hiện nay, các liệu pháp điều trị thường hướng đến một đích phân tử hoặc một con đường sinh học đơn lẻ và đã thu được nhiều thành công. Tuy nhiên, vấn đề kháng thuốc thúc đẩy việc nghiên cứu tìm kiếm các thuốc mới tác dụng được nhiều mục tiêu, mang lại hiệu quả chữa bệnh vượt trội hơn so với các thuốc nhắm vào một mục tiêu đơn lẻ. Do đó, việc khám phá các cấu trúc hóa học mới hoặc những công thức phối hợp nhiều loại thuốc/dược liệu có thể tương tác đồng thời với nhiều hơn một mục tiêu sinh học để mở rộng phổ điều trị bệnh ngày càng nhận được nhiều sự quan tâm của cộng đồng nghiên cứu trên thế giới.

Dị vòng chứa nitơ, lưu huỳnh có cấu trúc phân tử đa dạng và độc đáo, có nhiều ứng dụng trong dược phẩm, hợp chất thiên nhiên, thuốc nhuộm, vật liệu hữu cơ và đặc biệt là trong các phân tử có hoạt tính sinh học. Trong vài năm có sự gia tăng quan tâm đáng kể về nghiên cứu các phương pháp tổng hợp của các hợp chất hữu cơ dị vòng, như các benzimidazole, benzothiazole, indole, acridine, oxadiazole, imidazole, isoxazole, pyrazole, triazole, các quinoxaline và quinazoline và thăm dò các khả năng ứng dụng của chúng. Để phát triển cấu trúc dị vòng nitơ, lưu huỳnh mới với các tính năng vượt trội trong lĩnh vực vật liệu, y dược đòi hỏi phải liên tục nghiên cứu các phản ứng tổng hợp hóa học mới gắn với các xu thế hiện đại như hóa học xanh, giảm phát thải carbon, tiết kiệm nguyên tử (atom economy), giảm phát thải hoặc tái sử dụng các hợp chất hữu cơ,...

Hơn nữa, những thập niên gần đây, chúng ta đã chứng kiến sự phát triển vượt bậc về kĩ thuật và công nghệ trong lĩnh vực tìm kiếm, phát triển các thuốc từ hợp chất thiên nhiên. Đây vẫn là một hướng đi tiềm năng, hứa hẹn những đóng góp đáng kể. Việc khai thác nguồn hợp chất thiên nhiên từ các loài thảo dược và sàng lọc hoạt tính sinh học của chúng đóng một vai trò quan trọng trong việc định hướng phát triển loại thuốc mới.

Chính vì thế, lĩnh vực nghiên cứu chính của Phòng Nghiên cứu phát triển dược phẩm - Viện Hóa học là: *Thiết kế, tổng hợp các cấu trúc lai có hoạt tính sinh học kháng viêm, kháng ung thư*; *Nghiên cứu các phản ứng oxi hóa - khử mới có sử dụng lưu huỳnh để tổng hợp các hợp chất dị vòng; Nghiên cứu chiết tách các hợp chất có hoạt tính sinh học có nguồn gốc từ thiên nhiên*.

2. HƯỚNG NGHIÊN CỨU KHOA HỌC

2.1. Thiết kế, tổng hợp các cấu trúc lai có hoạt tính sinh học kháng viêm, kháng ung thư

Lai ghép phân tử là một chiến lược thiết kế hợp lý các cấu trúc hóa học mới dựa trên sự tích hợp các tiểu phần có tác dụng dược lý trong cấu trúc phân tử của hai hoặc nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học đã biết. Việc hợp nhất hợp lý của các tiểu phần này dẫn đến hình thành các cấu trúc mới duy trì các đặc điểm đã chọn trước của các phân tử nguyên mẫu ban đầu. Đây là một tiếp cận hiện đại trong thiết kế và phát triển thuốc nhằm tạo ra một hợp chất mới với ái lực và hiệu quả tốt hơn so với các thuốc mẹ. Việc lựa chọn hai nguyên mẫu trong các phân tử lai thường dựa trên nguyên tắc cộng hưởng các hoạt tính dược lý cho phép thiết kế ra các cấu trúc hóa học mới có hoạt tính cao. Thuốc lai còn được thiết kế để khắc phục các tác dụng phụ đã biết của các thuốc mẹ hoặc để hướng tác dụng của nó tác động lên mục tiêu sinh học khác, góp phần làm giảm nguy cơ tương tác thuốc và giảm thiểu tình trạng kháng thuốc. Từ nhiều năm, chúng tôi đã sử dụng cách tiếp cận này và khám phá được nhiều cấu trúc hóa học mới với hoạt tính chống ung thư đầy hứa hẹn. Các cấu trúc lai ghép này đã được sử dụng như một công cụ đặc biệt để thăm dò hoạt tính đối với tubulin. Các hợp chất thiên nhiên đã biết can thiệp vào quá trình chuyển hóa tubulin/microtubule đã được chúng tôi sử dụng như là những cấu trúc ban đầu để thiết kế và tổng hợp các hợp chất lai ghép mới như hợp chất lai taxol-steroid, các ancaloit Dừa cạn, phomopsin, hemiasterlin và thu được nhiều kết quả triển vọng với một số hợp chất lai ghép hướng đích tubulin thể hiện hoạt tính chống ung thư ở ngưỡng nanomole.

Phương pháp nghiên cứu: Sử dụng các phương pháp tổng hợp hữu cơ hiện đại, cải tiến, nâng cấp và vận dụng thích hợp vào các trường hợp cụ thể. Tách và tinh chế các chất bằng phương pháp sắc ký hiện đại như sắc ký cột kết hợp với khảo sát bằng sắc ký lớp mỏng với các hệ dung môi thích hợp. Sắc ký cột gồm sắc ký cột thường và sắc ký cột nhanh (flash chromatography) sử dụng silica gel. Đối với các chất phân cực mạnh có thể sử dụng Sephadex LH–20 hoặc sắc ký cột ngược pha RP-18. Trường hợp cần thiết có thể chạy cột lặp lại nhiều lần hoặc dùng phương pháp kết tinh phân đoạn, kết tinh lại để tinh chế chất. Ngoài ra, còn sử dụng sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC, sắc ký lỏng hiệu năng cao kết hợp khối phổ (HPLC-MS) đối với những chất khó phân lập bằng sắc ký cột thường. Xác định cấu trúc hóa học của các chất phân lập được bằng cách sử dụng kết hợp các phương pháp phổ hiện đại như phổ hồng ngoại (FT-IR), tử ngoại (UV-Vis), phổ khối phân giải thường và phân giải cao (EI-, ESI-, HR-MS) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (^{1}H, ^{13}C, DEPT) và hai chiều (COSY, NOESY, HSQC, HMBC) trên các thiết bị cộng hưởng từ hạt nhân 500 MHz và 600 MHz. Hoạt tính gây độc tế bào được đánh giá theo phương pháp được phát triển bởi Skehan, đang được áp dụng tại Viện Y tế Quốc gia (Hoa Kỳ) sử dụng bảng các dòng tế bào ung thư ở người. Hoạt tính kháng viêm của các hợp chất được đánh giá theo khả năng ức chế sản xuất nitric oxit (NO) trong các tế bào RAW264.7 của đại thực bào ở chuột được kích hoạt bằng lipopolysacarit (LPS). Để phân tích chu kỳ tế bào các mẫu tế bào được xử lý với chất thử và phân tích bằng thiết bị trắc lưu tế bào học Novocyte (ACEA Bioscatics, San Diego, CA, USA). Nghiên cứu hoạt tính gây apoptosis của hoạt chất qua nhuộm nhân tế bào với Hoechst 33342, qua trắc lưu tế bào nhuộm Annexin V FITC và PI, phân tích hoạt tính caspase-3. Nghiên cứu docking phân tử sử dụng AutoDock 4.2.6 với thuật toán di truyền Lamarckian (LGA) để tìm kiếm vị trí gắn tối ưu cùng với chức năng tính điểm để tính ái lực liên kết. Công cụ AutoDock (ADT) được sử dụng để thiết lập và thực hiện tính toán docking. Cấu trúc ba chiều của các phân tử được chuẩn bị bằng

MarvinSketch phiên bản 19.27.0 và PyMOL phiên bản 2.2.2. Mức cực tiểu năng lượng được tính toán bằng cách sử dụng Gabedit 2.5.0. Các mục PDB được chọn để nghiên cứu docking là 3LN1, 1CX2, 6BL3 đối với enzym COX-2, và 1Z2B, 3DU7, 3E22 đối với protein tubulin và được xử lý bằng ADT. Các ID PDB: 3LN1, 1CX2, 6BL3 là phức hợp của COX-2 với các chất ức chế khác nhau. Sự lựa chọn các 1Z2B, 3DU7, 3E22 dựa trên tương tác tubulin với các phối tử chuẩn khác nhau.

Các đề tài khoa học đã, đang triển khai: Với hướng nghiên cứu 1, Phòng Nghiên cứu phát triển dược phẩm đã chủ nhiệm và triển khai các đề tài khoa học:

- Tổng hợp và thử hoạt tính chống ung thư các dẫn xuất lai ghép mới từ các muối amoni bậc bốn của vinorelbin. Cấp Nhà nước (Nafosted), MS: 104.01-2010.13, 2010-2013, đã nghiệm thu ngày 12/12/2015.

- Nghiên cứu tổng hợp và hoạt tính sinh học các dẫn xuất mới của ancaloit nhân indol. Cấp Viện HL KHCN Việt Nam, MS: VAST 04.04/15-16, 2015-2016, đã nghiệm thu ngày 02/11/2017.

- Nghiên cứu tổng hợp và sàng lọc tác dụng chống viêm, kháng ung thư các hợp chất mới mô phỏng cấu trúc của podophyllotoxin và diaryl stilbene. Cấp Nhà nước (Nafosted), MS: 104.01-2015.90, 2016-2019, đã nghiệm thu ngày13/3/2020.

- Nghiên cứu tổng hợp và đánh giá hoạt tính kháng viêm của các dẫn xuất Sultam mới, MS: GUST.STS.ĐT2019-HH01. 2019-2022, đã nghiệm thu ngày 17/8/2022.

Kết quả nghiên cứu

+ Thiết kế, tổng hợp và nghiên cứu hoạt tinh sinh học các vinca alkaloid mới

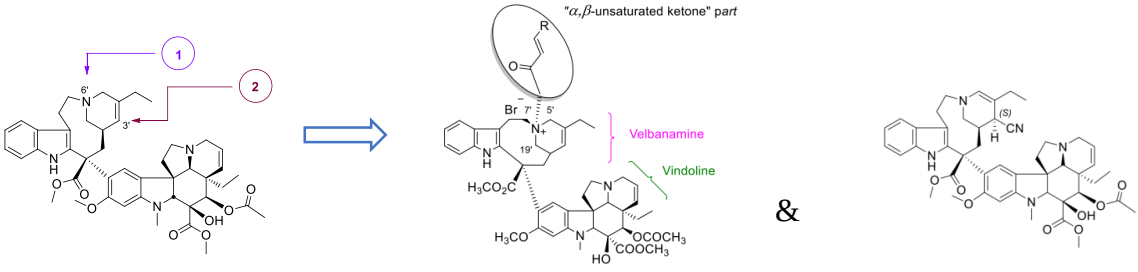
Các vinca-alkaloid được phân lập từ cây Dừa cạn Madagascar, *Catharanthus roseus* G. Don. đã được sử dụng như các thuốc chống ung thư trong hơn 50 năm qua. Ngày nay, hai hợp chất tự nhiên, vinblastine (VLB) và vincristine (VCR) và hai dẫn chất bán tổng hợp, vindesine (VDS) và vinorelbine (VRLB), đã được phê duyệt để sử dụng. Tiếp theo những kết quả nghiên cứu đã đạt được, chúng tôi tiếp tục thiết kế các cấu trúc lai ghép mới của vinca alkaloid nhằm tìm thêm các dẫn chất mới có độc tính thấp hơn, khả năng điều trị cao hơn và cấu trúc đơn giản hơn.

Các hợp chất *α,β*-ketone không no là những hợp chất được tìm thấy nhiều trong thiên nhiên và có nhiều hoạt tính sinh học bao gồm kháng viêm, chống sốt rét, chống ký sinh trùng, chống huyết áp, đặc biệt là hoạt tính gây độc tế bào hay khả năng định hướng các tế bào ung thư chết theo chương trình. Chính vì vậy, các hợp chất chứa nhóm *α,β*-ketone không no luôn là đối tượng nghiên cứu hấp dẫn của các nhà khoa học. Các nitril tự nhiên như các alkaloid *bis*-indol từ *Tabernaemontana elegans*, lahadinines A và B từ *Kopsia pauciflora*, saframycin A và cyanocycline A, có cả hoạt tính kháng khuẩn và chống ung thư. Hơn nữa, các hợp chất nitril cho thấy có thể đóng vai trò như các bioisostere của carbonyl, halogen, hydroxyl và nhóm carboxyl. Về mặt dược lý, các hợp chất nitril cho thấy có thể cải thiện độc tính ADME.

Nghiên cứu này đặt mục tiêu tổng hợp các dẫn xuất lai vinca-alkaloid mới với các hợp chất *α,β*-ketone không no ở vị trí N-6' (**1**) và nhóm nitril ở vị trí C-3' (**2**) thuộc vòng D của velbanamine (Hình 1), đồng thời đánh giá hoạt tính sinh học của các dẫn xuất tổng hợp được. Các kết quả thu được trình bày trên Hình 1.

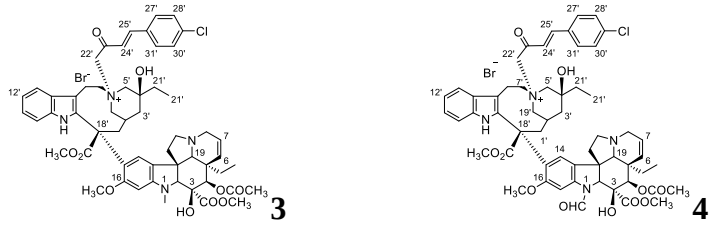
Phát triển một phương pháp mới tổng chọn lọc hợp chất 3'*S*-cyanoanhydrovinblastine **2** trong điều kiện ôn hòa từ hai vinca alkaloid tự nhiên là catharanthine và vindoline cho hiệu suất cao hơn nhiều phương pháp tổng hợp cũ (74% so với 32%). Khử chọn lọc lập thể alkaloid **2** theo các điều kiện khác nhau thu được 3 vinca-alkaloid mới một cách chọn lọc với hiệu suất tốt

bao gồm hai đồng phân không đối quang 3'*S*-cyano-(4'*R*,5'-dihydro)-anhydrovinblastine, 3'*S*-cyano-(4'*S*,5'-dihydro)-anhydrovinblastine và (3'*S*-aminometyl)-(4'*S*,5'-dihydro)-anhydrovinblastine.[1] Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên 2 dòng tế bào ung thư KB và Hep-G2 của 23 dẫn chất là các vinca alkaloid mới chứa mạch nhánh thơm *α*,*β*-ketone không no và các dẫn chất 3'-cyanoanhydrovinblastine. Hầu hết các chất đều có hoạt tính tốt ngưỡng 1-10 µM, một số chất có hoạt tính cùng ngưỡng với vinblastine và tốt hơn ellipticine. Lựa chọn 8 hợp chất có độc tính tế bào mạnh để tiến hành docking trên tubulin. Kết quả cho thấy 02 dẫn chất alkaloid Dừa cạn mới có độc tính tế bào mạnh nhất thì cũng có ái lực tương tác mạnh nhất với tubulin, tương đương chất chuẩn vinblastine.[2]



Hình 1. Các cấu trúc vinca-alkaloid mới

Trên cơ sở các kết quả sàng lọc hoạt tính gây độc tế bào của các dẫn xuất lai ghép thu được,[3] nhằm làm sáng tỏ cơ chế sinh học của quá trình ức chế sự phát triển của tế bào ung thư cũng như hiệu lực hiệu quả của các cấu trúc lai thu được, chúng tôi tập trung nghiên cứu sâu hoạt tính sinh học 02 chất tiêu biểu chlorochablastine **3** và chlorochacristine **4** (Hình 2) trên apoptosis, chu kỳ tế bào, ức chế tăng sinh tế bào so với các vinca alkaloid đã được sử dụng lâm sàng. Đây là nhưng nội dung hoàn toàn mới so với các công bố trước đây của chúng tôi. Hai vinca-alkaloid mới **3** và **4** cho thấy các hiệu ứng tương tự như các chất vinca-alkaloid cổ điển, nhưng cùng ngưỡng tác dụng như vinflunine là một thuốc đã được sử dụng trong thực hành lâm sàng. Kết quả này có thể được coi như là một bằng chứng *in vitro* rằng chlorochablastine và chlorochacristine có thể có hiệu quả trong điều trị ung thư.[5]



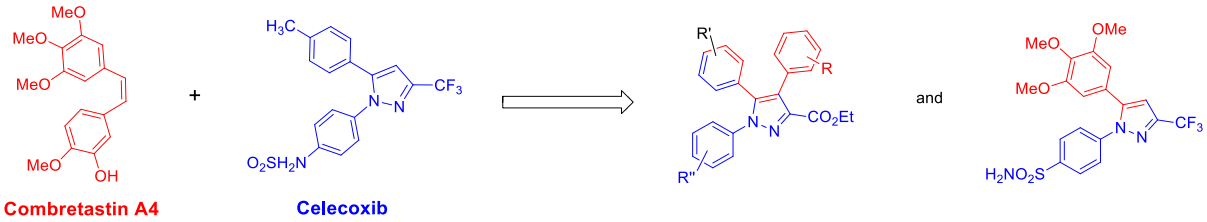
Hình 2. Chlorochablastine **3** và chlorochacristine **4**

+ Thiết kế, tổng hợp và nghiên cứu hoạt tinh sinh học các hợp chất lai giữa combretastatin và celecoxib

Celecoxib là một thuốc ức chế chọn lọc COX2 và có tác dụng giảm đau và chống viêm mà không có nhiều tác dụng phụ nghiêm trọng như các NSAID truyền thống. Thuốc cũng được phê duyệt sử dụng qua đường uống để ngăn ngừa sự phát triển ung thư ruột kết. Tuy nhiên, hai đặc tính dược lý ức chế COX-2 và ức chế sự phát triển của khối u, được phát hiện là các khía cạnh khác nhau của phân tử celecoxib. Những phát hiện này làm cho celecoxib trở thành một hợp chất hấp dẫn hàng đầu để phát triển các tác nhân chống ung thư mới. Combretastatins, một

họ stilbenoid phân lập từ *Combretum caffrum* Kuntze (Combretaceae), với đặc trưng cấu trúc chứa nhóm 1,2-diphenylethylene và thể hiện khả năng gây độc tế bào mạnh đối với một loạt các dòng ung thư ở người. Combretastatin A-4 (CA-4) thể hiện hoạt tính kháng tubulin mạnh bằng cách liên kết với vị trí colchicine của tubulin. Ba tính năng chính cần thiết để phân tử CA-4 thể hiện hoạt tính gây độc tế bào tối ưu bao gồm: định hướng *cis* của hai vòng thơm, các nhóm 3,4,5-trimethoxy trên vòng A và nhóm *para*-methoxy có trên vòng B. Tuy nhiên, CA-4 và một số dẫn chất của nó dễ bị biến đổi thành đồng phân *trans* bất hoạt tính. Do đó, cần có một chiến lược hiệu quả để ngăn cản sự chuyển đổi sang dạng *trans* một cách phù hợp.

Nghiên cứu này đã áp dụng chiến lược lai ghép các nhóm dược lý quan trọng của hai hợp chất gốc celecoxib và combretastatin (CA4) trong một phân tử duy nhất (Hình 3). Nhân 1,2-diphenylpyrazol của celecoxib đóng vai trò như một cấu trúc tương tự *cis*-1,2-diphenylethylen trong CA4. Sự thay thế liên kết đôi bằng vòng pyrazol đã được khẳng định duy trì hoạt tính gây độc tế bào và ức chế tubulin. Các hợp chất bị khóa dạng cấu hình *cis* này thể hiện một số lợi ích như ngăn chặn quá trình đồng phân hóa từ dạng *cis* thành *trans*, giúp tăng độ đặc hiệu của hoạt chất này với các mục tiêu tế bào và cải thiện tiềm năng điều trị của nó. Sự hiện diện của các nhóm trimethoxybenzen của CA4 cũng rất cần thiết cho hoạt tính độc tế bào. Đặc biệt, việc duy trì nhóm sulfonamid hoặc các đặc điểm liên quan đến celecoxib sẽ bảo tồn được tính chọn lọc COX2 của chất lai thu được. Tác dụng ức chế COX2 nếu có sẽ góp phần tăng cường hoạt tính chống khối u của các phân tử lai mới.

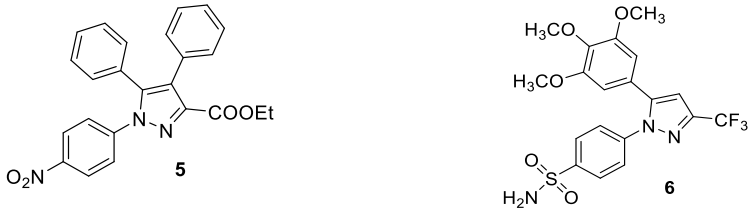


Hình 3. Chiến lược lai ghép các nhóm dược lý quan trọng của celecoxib và combretastatin

Theo chiến lược đã đề ra, chúng tôi đã thiết kế và tổng hợp 41 dẫn xuất lai của celecoxib cũng như CA-4 đồng thời đánh giá hoạt tính độc tế bào của chúng trên ba dòng tế bào ung thư ở người HT-29, Hep-G2, MCF -7 và hoạt tính kháng viêm thông qua ức chế sản xuất NO. 12 hợp chất lai mới thể hiện độc tính tế bào trên dòng MCF-7 mạnh hơn celecoxib và năm hợp chất có IC_{50} < 10 µM. Ngoài ra, một số hợp chất cũng có độc tính tế bào trên các dòng Hep-G2, HT-29 tương đương hoặc mạnh hơn celecoxib. Hợp chất **6** mang đầy đủ các đặc điểm cấu trúc của khung celecoxib và CA4 cho thấy hoạt tính gây độc tế bào nổi trội với dòng MCF-7. Kết quả đánh giá tác dụng kháng viêm *in vitro* các hợp chất lai cho thấy 2 hợp chất trong đó có **6** có hoạt tính kép mạnh nổi trội đối với việc ức chế sản sinh NO cũng như hoạt tính gây độc tế bào ung thư trên dòng MCF-7 so với celecoxib.[5]

Một số hợp chất lai triển vọng đã được chọn để đánh giá sâu hơn tác dụng kép chống tăng sinh tế bào ung thư và kháng viêm. Hai hợp chất **5** và **6** đều có tác dụng kháng viêm tương đương hoặc mạnh hơn celecoxib trên mô hình ức chế sản xuất PGE2 (Hình 4). Trong khi hợp chất **6** tạo ra sự bắt giữ tế bào tại pha G2/M tương tự colchicin hoặc combretastatin, thì hợp chất **5** lại tạo ra sự bắt giữ tế bào tại pha G0/G1 tương tự celecoxib, tuy nhiên chỉ hợp chất **6** gây ra apoptosis chủ yếu ở giai đoạn đầu của các tế bào MCF7 thông qua kích hoạt caspase-3. Các tính toán trong mô hình tương tác phân tử với cả hai mục tiêu protein COX-2 và tubulin cho thấy 02 hợp chất **5** và **6** đều thể hiện năng lượng gắn kết tốt, bước đầu cho thấy các cấu trúc lai mới này đã thể hiện hoạt tính đa đích. Kết hợp những kết quả này cho thấy khung *cis*-diphenylethylene của celecoxib hoặc combretastatin A-4 cũng như các nhóm chức như ethylester và sulfonamide có thể được coi là các đặc điểm cấu trúc chính quyết định hoạt tính

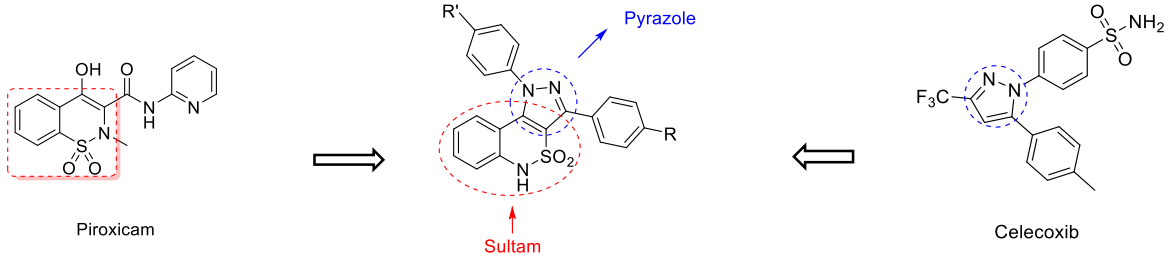
kép kháng u và kháng viêm trong khi nhóm trimethoxybenzene vẫn là đặc tính quan trọng của các hợp chất mới có nguồn gốc từ combretastatins.[6]



Hình 4. Hai hợp chất lai celecoxib và combretastatin tiềm năng

+ Thiết kế, tổng hợp và nghiên cứu hoạt tinh sinh học các hợp chất lai sultam-pyrazole mới

Sultam là các hợp chất sulfonamide vòng, một lớp quan trọng của hóa học dị vòng, do chúng có nhiều ứng dụng to lớn trong tổng hợp hữu cơ, hóa dược, hóa nông nghiệp. Hợp chất Sultam có các hoạt tính sinh học như hoạt tính kháng virus, kháng khuẩn, kháng viêm, chống ung thư, ức chế enzym. Đặc biệt, một trong những đặc tính nổi trội của các hợp chất Sultam là đặc tính kháng viêm. Khung sultam là cấu trúc chính của họ thuốc kháng viêm oxicam như Ampiroxicam, Droxicam và Piroxicam (Feldene®).

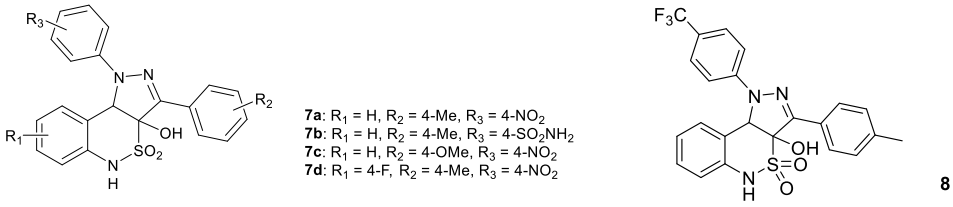


Hình 5. Chiến lược lai ghép hai khung sultam-pyrazole của celecoxib và piroxicam

Celecoxib (Celebrex®) chứa khung pyrazole có tác dụng giảm đau và chống viêm hiệu quả trong bệnh viêm khớp và các triệu trứng đau khác, mà ít gây tác dụng phụ trên đường tiêu hóa hơn hẳn so với các thuốc NSAIDs trước đó. Xuất phát từ đặc điểm về cấu trúc và hoạt tính của các hợp chất sultam và pyrazole và với mong muốn tạo ra các hoạt chất kháng viêm mới mạnh mẽ và an toàn hơn, chúng tôi đã đặt mục tiêu tổng hợp các cấu trúc dị vòng lai sultam - pyrazole đồng thời bước đầu đánh giá hoạt tính kháng viêm của các dẫn xuất tổng hợp được với hy vọng có thể thu được một lớp chất kháng viêm mới lý thú (Hình 5). Kết quả:

+ 15 hợp chất lai sultam-pyrazole mới kết hợp khung benzothiazine của piroxicam và arylpyrazole của celecoxib đã được tổng hợp, trong đó 08 dẫn xuất lai sultam-pyrazole mới thể hiện khả năng kháng viêm trên mô hình ức chế sản xuất NO mạnh hơn so với đối chứng dương (NG-Methyl-Larginine acetate-L-NMMA) và celecoxib, đặc biệt 4 chất có tác dụng kháng viêm mạnh hơn đối chứng trong khi hoàn toàn không có tác dụng độc tính tế bào như chất **7a-d** (Hình 6). Kết quả này cho thấy các cấu trúc lai sultam-pyrazole mới đã đem đến sự cải thiện đáng kể về đặc tính chống viêm và độ an toàn trên các mô hình thử nghiệm *in vitro*.[7]

+ 01 hợp chất sultam mới **8** ức chế đáng kể sự phát triển của tế bào ung thư bằng cách ngăn chặn sự tiến triển của chu kỳ tế bào ở các pha G0/G1 và gây ra quá trình apoptosis của tế bào bạch cầu cấp tính dòng tủy OCI-AML3, đồng thời ức chế chọn lọc TNF-α và TGF-β (ở tất cả các nồng độ được thử nghiệm), trong khi không tác dụng lên các cytokine khác (IL-4, interferon-γ [IFN-γ], IL-9, và IL-12). Vì vậy, hợp chất **8** hứa hẹn là ứng viên tiềm năng để phát triển nhóm chất điều trị ung thư đa đích khi đồng thời có khả năng ảnh hưởng đến các quá trình khác nhau liên quan đến bệnh ung thư như tăng sinh tế bào và phản ứng miễn dịch/viêm (Hình 6).[8]



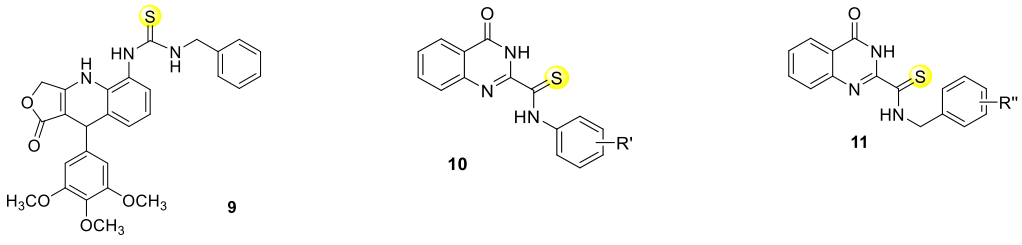
Hình 6. Các hợp chất lai sultam-pyrazole tiềm năng mới

+ Thiết kế, tổng hợp các hợp chất chứa lưu huỳnh có hoạt tính sinh học

Đã từ lâu, các hợp chất chứa lưu huỳnh là một phần quan trọng và cốt lõi của các loại thuốc được lưu hành và hợp chất có hoạt tính đều trị. Ngoài ra, những tiến bộ gần đây về các phương pháp tổng hợp các hợp chất hữu cơ chứa lưu huỳnh cũng đã tăng khả năng tiếp cận lớp chất này. Các hợp chất chứa lưu huỳnh nhiều có hoạt tính sinh học khác nhau như kháng virus, kháng ung thư, trị đái tháo đường, kháng khuẩn, kháng nấm, chống viêm,... Mặc dù có nhiều tiến bộ, vẫn còn những thách thức khác nhau của các thuốc chứa lưu huỳnh như cải thiện độc tính hay mở rộng phổ điều trị. Bước đầu, chúng tôi đã nghiên cứu tổng hợp một số lớp chất chứa lưu huỳnh và đánh giá hoạt tính sinh học của chúng. Kết quả:

- Đã tổng hợp được 12 dẫn xuất 5-thiourea-4-aza-2,3-didehydropodophyllotoxin mới bằng phản ứng đa thành phần độc đáo sử dụng nguyên tố lưu huỳnh trong tổng hợp thiourea mà không sử dụng chất xúc tác và tiết kiệm nguyên tử. Một số dẫn xuất 5-thiourea-4-aza-2,3 didehydropodophyllotoxin mới thể hiện khả năng gây độc tế bào tốt (≤10 μM) trên hai dòng tế bào khối u ở người (MCF-7 và Hep-G2) và mạnh hơn nhiều so với tiền chất 5-amino-4-aza-2,3-didehydropodophyllotoxin (chất **9**, Hình 7). Nghiên cứu docking phân tử đã chứng minh rằng hợp chất này là các chất ức chế tiềm năng và thể hiện ái lực gắn kết cao vớitopoisomerase II beta so với chất ức chế tham chiếu etoposide.[9,10]

- Đã thiết kế và tổng hợp thành công 12 dẫn xuất thioamide chứa khung 4(3H)-quinazolinone thông qua 2 bước đơn giản áp dụng qua trình hóa học xanh không sử dụng xúc tác kim loại. Một số dẫn xuất thioamide thu được thể hiện hoạt tính kháng viêm trên mô hình ức chế sản xuất NO mạnh hơn từ 5-10 lần chất đối chứng dương dexamethasone, trong khi không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn hay độc tế bào thường thấy của các lớp chất khung 4(3*H*)-quinazolinone (chất **10**, **11**, Hình 7). Kết quả nghiên cứu đang được xử lý và công bố.



Hình 7. Các hợp chất chứa lưu huỳnh mới có hoạt tính sinh học

Ứng dụng khoa học và công nghệ vào thực tế: Độc quyền sáng chế (*Quy trình tổng hợp và tinh chế Felodipin, Cục Sở hữu trí tuệ, Bộ KH&CN, số 2654, cấp theo Quyết định số 8945w/QĐ-SHTT, ngày 31/5/2021*).

Đào tạo: Với hướng nghiên cứu này, Phòng Nghiên cứu phát triển dược phẩm đã tham gia giảng dạy các môn học sau tại các cơ sở đào tạo: Học viện Khoa học và Công nghệ: Hóa dược (giảng dạy học phần cho nghiên cứu sinh và học viên cao học); Trường Đại học Y – Dược Cần Thơ: Hóa học và Hóa hữu cơ (giảng dạy học phần cho sinh viên); Đã tham gia hướng dẫn

04 NCS đã bảo vệ thành công luận án TS (trong đó hướng dẫn chính 02 NCS) và 01 postdoc. Phòng chúng tôi đã biên soạn 01 sách chuyên khảo phục vụ đào tạo (*Thiết kế tổng hợp và hoạt tính sinh học các cấu trúc lai từ hợp chất thiên nhiên, ISBN: 978-604-357-128-8, NXB Khoa học tự nhiên và công nghệ, năm 2023*).

2.2. Hướng nghiên cứu các phản ứng oxi hóa - khử mới có sử dụng lưu huỳnh để tổng hợp các hợp chất dị vòng

Benzazole là một trong những hợp chất quan trọng, đại diện cho một nhóm các hợp chất dị vòng có nhiều hoạt tính sinh học thú vị. Cho đến hiện nay, phần lớn các phương pháp tổng hợp 1,3-benzazole đều dựa trên phản ứng oxi hóa ngưng tụ sử dụng tác nhân oxy hóa là oxy và được xúc tác với các kim loại khác nhau. Tuy nhiên, việc sử dụng oxy làm chất oxy hóa có một số mặt hạn chế như phản ứng thường kém chọn lọc, đòi hỏi có mặt xúc tác kim loại, đôi khi đắt tiền và quá trình tinh chế sản phẩm loại xúc tác phức tạp. Việc thao tác với oxy dạng khí đòi hỏi các thiết bị phản ứng đặc biệt, nhất là ở nhiệt độ cao và áp suất cao.

Gần đây, lưu huỳnh đang được nghiên cứu sử dụng nhiều trong các phản ứng oxy hóa khử ngưng tụ. Sử dụng lưu huỳnh như là một tác nhân hoặc xúc tác phản ứng oxy hóa ngưng tụ có một số ưu điểm như lưu huỳnh là chất rắn, không hút ẩm, bền, không độc. So với oxy, việc sử dụng một lượng chính xác lưu huỳnh trong một phản ứng là điều vô cùng dễ dàng dù ở nhiệt độ cao. Ngoài ra, các phản ứng với lưu huỳnh có thể được xúc tác bằng các kim loại rẻ tiền và không có độc tính đáng kể như sắt, molybdenum. Với những ưu điểm trên, chúng tôi đặt mục tiêu phát triển các phản ứng oxi hóa - khử mới có sử dụng lưu huỳnh để tổng hợp các hợp chất dị vòng như là một phương pháp phù hợp với cách tiếp cận hóa học xanh, thân thiện với môi trường.

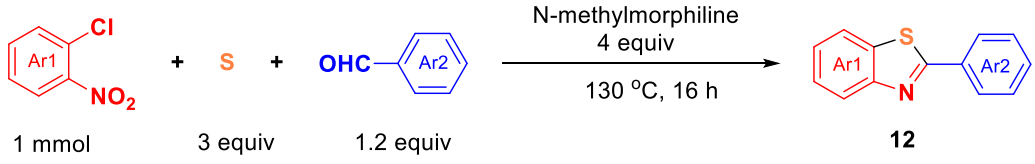
Các đề tài khoa học đã, đang triển khai: Với hướng nghiên cứu này, Phòng Nghiên cứu phát triển dược phẩm đã chủ nhiệm và triển khai các đề tài khoa học:

• Nghiên cứu các phản ứng oxy hóa - khử có sử dụng lưu huỳnh để tổng hợp các hợp chất dị vòng. Cấp Viện HL KHCN Việt Nam, MS: KHCBHH.01/18-20, 2018-2020, đã nghiệm thu ngày 06/5/2022.

• Nghiên cứu tổng hợp và hoạt tính sinh học các hợp chất chứa khung 2-heterosubstituted benzazoles (đề tài cấp Bộ thuộc hướng KHCN ưu tiên NCCB theo Quyết định số 562/QĐ-TTg triển khai từ năm 2022 đến năm 2024 của Viện HL KHCNVN, đang thực hiện).

Kết quả nghiên cứu

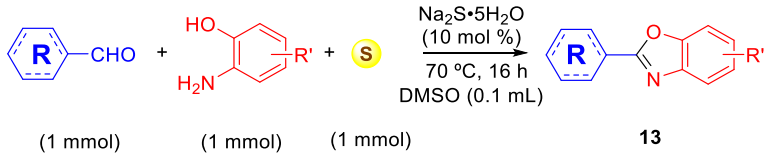
+ Tổng hợp xanh benzothiazole



Benzothiazole thường được tổng hợp bằng cách ngưng tụ 2-amino/aniline với các dẫn xuất axit cacboxylic. Hai nguyên liệu ban đầu thường được điều chế bởi hai phản ứng ngược nhau: aniline từ việc khử nitrobenzene (6e-) và các axit cacboxylic từ quá trình oxy hóa các hợp chất như aldehyde, ancol hoặc thậm chí nhóm methyl (2e-, 4e-, hoặc 6e-). Chúng tôi đã phát triển một phương pháp mới tổng hợp khung 2-arylbenzothiazoles**12** thông qua một quá trình oxy hóa khử ngưng tụ không xúc tácgiữa o-nitrohalobenzenes, benzaldehydes và lưu huỳnh nguyên tố. Một nguyên tử lưu huỳnh bổ sung hoạt động như chất khử bổ sung bên ngoài theo phương trình S + 3 [O] → SO_3. Chiến lược này mang tính tiết kiệm nguyên tử cao do sử dụng lượng gần như bằng nhau của hai nguyên liệu hữu cơ ban đầu. So với các phương pháp tổng

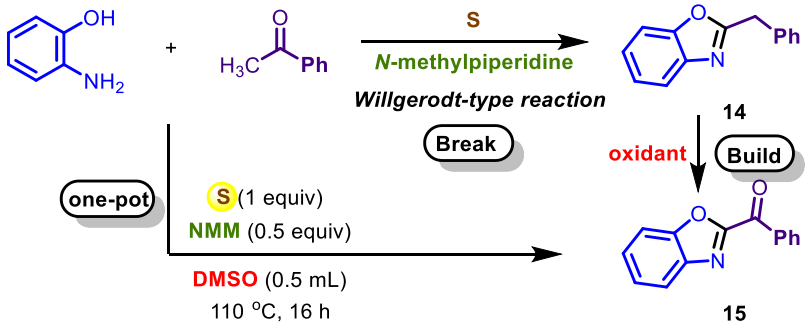
hợp đã công bố, phương pháp này nổi bật bởi tính đơn giản và hiệu quả khi tổng hợp các khung benzothiazole tương đối phức tạp từ các nguyên liệu ban đầu đơn giản và rẻ tiền.[11]

+ Tổng hợp arylbenzoxazole từ 2-aminophenol và aldehydes sử dụng lưu huỳnh nguyên tố làm chất oxy hóa



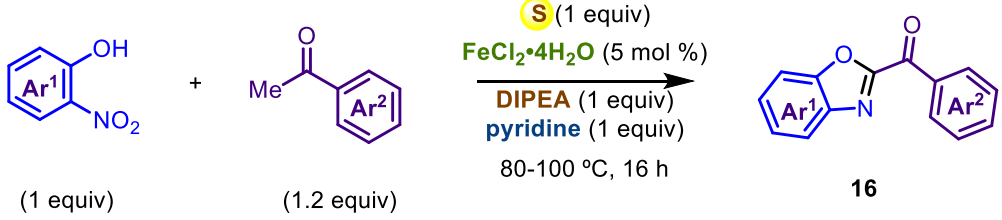
Các benzoxazole là một cấu trúc dị vòng khá phổ biến trong nhiều hợp chất thiên nhiên và các phân tử có hoạt tính sinh học. Trước đây, quá trình tổng hợp các dẫn xuất 2-arylbenzoxazole đòi hỏi điều kiện axit mạnh, nhiệt độ cao và xúc tác kim loại chuyển tiếp đắt tiền/độc hại. Ở đây, chúng tôi đã phát triển một phương pháp hiệu quả để tổng hợp các 2-benzoxazole thế **13** từ 2-aminophenol và aldehyde sử dụng lưu huỳnh nguyên tố ở lượng cân bằng hóa học làm chất oxy hóa và $Na_2S·5H_2O$ làm chất xúc tác kích hoạt lưu huỳnh và một lượng DMSO tối thiểu. So với các phản ứng tương tự sử dụng oxy làm chất oxy hóa, phương pháp của chúng tôi ưu việt hơn bởi tính đơn giản với thể tích phản ứng thấp,không cần thiết bị áp suất cao ngay cả đối với quy mô lớn hơn (10-50 mmol).[12]

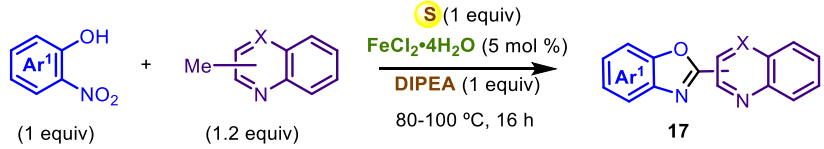
+ Tổng hợp"one-pot" 2-benzoylbenzoxazole từ 2-aminophenol và acetophenone



Một dạng cấu trúc dị vòng benzoxazole khác cũng được quan tâm nghiên cứu là các dẫn xuất 2-benzoylbenzoxazole. Trước đây, phản ứng Willgerodt giữa acetophenone với *o*-aminophenol được xúc tác bởi lưu huỳnh và *N*-methylpiperidine tạo thànhbenzylbenzoxazole **14**, trong đó nhóm cacbonyl bị khử về nhóm methylene (Break). Nhóm methylene này sau đó tiếp tục bị oxy hóa thành cacbonyl ở 2-benzoylbenzoxazole **15** (Build), sử dụng các điều kiện phản ứng tương đối phức tạp liên quan đến chất oxy hóa mạnh với sự có mặt của chất xúc tác là kim loại chuyển tiếp. Trong công trình này, chúng tôi đã phát triển một phương pháp One-pot để tổng hợp trực tiếp 2-benzoylbenzoxazole **15** từ *o*-aminophenol và acetophenone trong một bước nhờ phản ứng oxy hóa sử dụng DMSO như một dung môi và một chất oxy hóa nhẹ có tính chọn lọc, đặc biệt khi có mặt lưu huỳnh.[13]

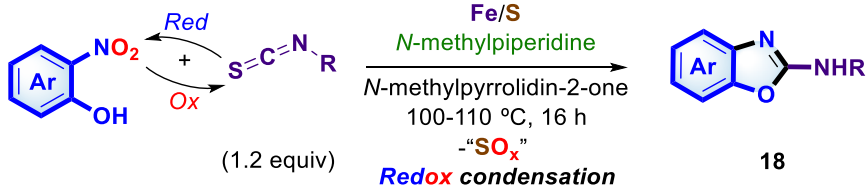
+ Tổng hợp 2-benzoylbenzoxazoles và 2-quinolylbenzoxazoles từ o-nitrophenol với acetophenones và methylquinolines





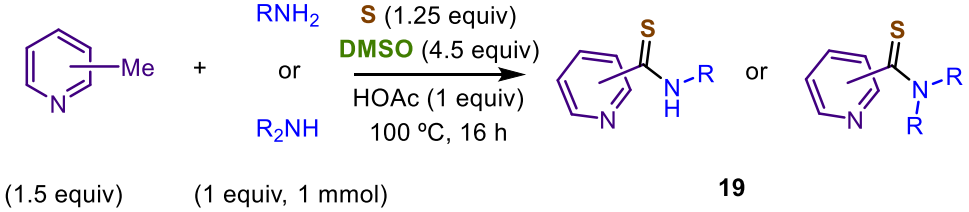
Trong các hệ thống sống, quá trình oxi hóa khử thường được điều khiển bởi các metalloenzyme. Gần đây, các hệ xúc tác Fe/S mô phỏng các metalloenzyme được phát triển cho các phản ứng oxi hóa khử ngưng tụ giữa các nhóm nitro với nhóm thế có tính khử khác nhau và thu được nhiều kết quả lý thú. Trong công trình này, sử dụng xúc tác Fe/S được tạo ra bởi từ $FeCl_2.4H_2O$ và lưu huỳnh S8 *in situ*, chúng tôi đã thực hiện thành công phản ứng oxy hóa khử ngưng tụ 6e giữa*o*-nitrophenol với acetophenone hoặc methylquinoline để thu được các 2-benzoylbenzoxazole **16** và 2-quinolylbenzoxazole **17**. Các xúc tác sắt - lưu huỳnh *in situ* này có khả năng phản ứng cao, cho phép các phản ứng diễn ra ở nhiệt độ thấp tới 80 °C với tính đa dạng nhóm chức của cả hai chất đầu và thân thiện môi trường vì nước là sản phẩm phụ duy nhất.[14]

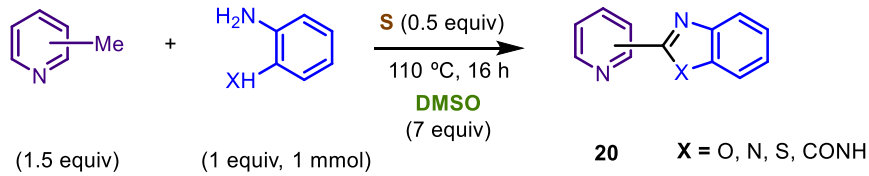
+ Tổng hợp xanh 2-aminobenzoxazole bằng phản ứng oxy khử hóa ngưng tụ o-nitrophenol với isothiocyanate



Các 2-aminobenzazole cấu tạo nên những hợp chất với các hoạt tính đa dạng như chống nấm, chống ung thư, chống viêm, diệt plasmodia, giảm đau, điều trị chứng mất ngủ,... Một trong những phương pháp tổng hợp 2-aminobenzazole hiệu quả nhất hiện nay là cho 2-aminophenol phản ứng với isothiocyanate để tạo ra chất trung gian thiourea, sau đó tiếp tục đóng vòng loại lưu huỳnh với các tác nhân khác nhau. Tất cả các phương pháp đều dùng chung chất đầu *o*-aminophenol, hợp chất có thể thu được từ khử các *o*-nitrophenol tương ứng. Tiếp theo các nghiên cứu của chúng tôi về việc sử dụng các hợp chất nitro như cơ chất oxy hóa để tổng hợp dị vòng aza- thông qua các cặp oxi hóa khử NO_2/CH_3 và NO_2/CH_2, chúng tôi đã phát triển một phương pháp tổng hợp 2-aminobenzoxazole **18** bằng phản ứng oxi hóa khử ngưng tụ trực tiếp *o*-nitrophenol với isothiocyanate sử dụng hệ xúc tác Fe/S. Hệ thống xúc tác Fe/S *in situ* của chúng tôi cho phép sử dụng nguyên tử lưu huỳnh từ nhóm chức isothiocyanate như một chất khử để loại bỏ cả hai nguyên tử oxy khỏi nhóm nitro, toàn bộ quá trình tạo thành 2-aminobenzothiazole được gộp thành một bước tổng hợp oxi hóa khử ngưng tụ và tiết kiệm nguyên tử. Vì hydro sunfua, sản phẩm phụ thường gặp của quá trình hóa học isocyanate, nên được xử lý theo cách an toàn để giảm tác động xấu đến sức khỏe và môi trường, đặc biệt là trong các quá trình tổng hợp quy mô lớn. Trong trường hợp này, việc tránh được các sản phẩm phụ phản ứng có hại có thể minh họa cho xu hướng hóa học xanh trong tổng hợp hữu cơ.[15]

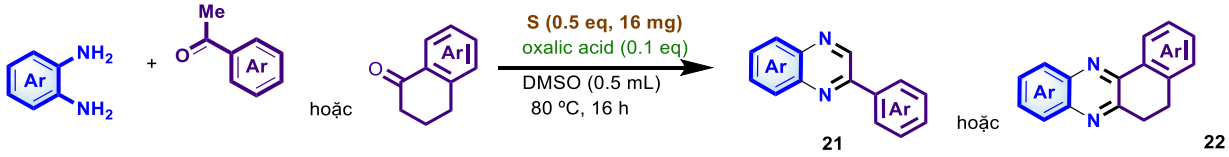
+ Tổng hợp thioamides và dị vòng bis-aza từ methylhetarenes với amin





Thioamide là một nhóm các hợp chất quan trọng trong một số hợp chất thiên nhiên, các chất có hoạt tính sinh học. Mặc dù phản ứng giữa tác nhân Lawesson với các amide là phản ứng tổng hợp thioamide phổ biến nhất, nhưng phương pháp này chỉ có khả năng xảy ra với một số ít các nhóm chức. Trong công trình này, chúng tôi đã tổng hợp được các thioamide **19** với hiệu suất tốt đến xuất sắc nhờ phản ứng oxy hóa ghép đôi của methylhetarene với các amin được thúc đẩy bởi DMSO và một lượng lưu huỳnh xấp xỉ 1 đương lượng. Khi *o*-anilin mang các nhóm thế có thể đóng vòng như OH, NH_2, NHPh, SH và $CONH_2$ được sử dụng làm cơ chất amin, chúng tôi thu được các dị vòng bis-aza lai **20** tương ứng với hiệu suất cao ngay cả khi chỉ dùng 0,5 đương lượng lưu huỳnh.[16]

+ Tổng hợp 2-arylquinoxaline và naphthoquinoxaline từ acetophenon hoặc α-tetralones và o-phenylenediamines



Quinoxaline là các hợp chất dị vòng quan trọng có mặt rộng rãi trong tự nhiên, trong cấu trúc các hợp chất có hoạt tính sinh học, thuốc bảo vệ thực vật cũng như các vật liệu tiên tiến. Tổng hợp quinoxaline từ nguyên liệu ban đầu *o*-phenylenediamine sử dụng oxy phân tử có nhiều hạn chế do khả năng phản ứng cao của oxy phân tử với các dẫn xuất *o*-phenylenediamine để tạo thành các sản phẩm phụ. Trong công trình này, nhận thấy *o*-phenylenediamine tương đối bền với lưu huỳnh, chúng tôi đã nghiên cứu thành công phương pháp oxy hóa ngưng tụ mới giữa các acetophenon **2** hoặc *α*-tetralones và *o*-phenylenediamines sử dụng hệ xúc tác lưu huỳnh/ DMSO để tổng hợp các dẫn chất 2-arylquinoxaline **21** hoặc naphthoquinoxaline **22**. Phản ứng một bước duy nhất này sở hữu những ưu điểm nổi bật như chất đầu đơn giản dễ kiếm, phạm vi áp dụng đa dạng và điều kiện tiến hành khá êm dịu, thân thiện với môi trường.[17]

Ứng dụng khoa học và công nghệ vào thực tế: Phương pháp chiết tách hợp chất capparilosit A từ cây Trứng quốc (*Stixis suaveolens* (Roxb.) *pierre* (capparaceae) (Giải pháp hữu ích Cục Sở hữu trí tuệ, Bộ KH&CN, số 30079, Cấp theo Quyết định số 16031w/QĐ-SHTT ngày 13/10/2021).

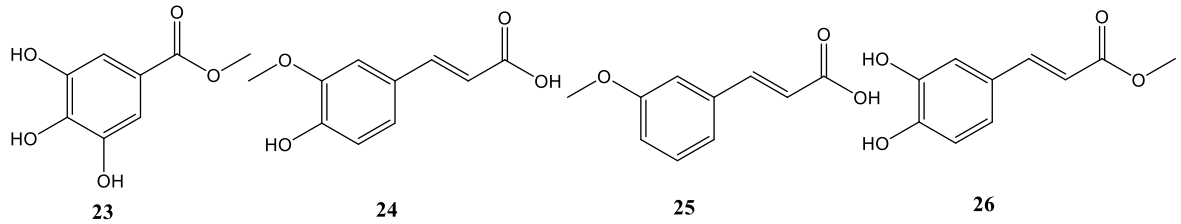
***Đào tạo*:**Với hướng nghiên cứu này, Phòng Nghiên cứu phát triển dược phẩm đã tham gia giảng dạy các môn học sau tại các cơ sở đào tạo: Học viện Khoa học và Công nghệ: Hóa dược (giảng dạy học phần cho nghiên cứu sinh và học viên cao học); Trường Đại học Y - Dược Cần Thơ: Hóa học và Hóa hữu cơ (giảng dạy học phần cho sinh viên); Đã hướng dẫn chính 01 NCS bảo vệ thành công luận án TS và đang hướng dẫn chính 01 NCS. Phòng chúng tôi đã biên soạn một sách chuyên khảo (*Hóa học dòng chảy trong tổng hợp hữu cơ nguyên lý và ứng dụng, ISBN: 978-604-9985-11-9, NXB Khoa học tự nhiên và Công nghệ, năm 2020*).

2.3. Hướng nghiên cứu chiết tách các hợp chất có hoạt tính sinh học có nguồn gốc thiên nhiên

Từ một số loài thảo dược: Gắm cọng (*Gnetum latifolium*), Chay (*Artocarpus tonkinensis*), Cúc quỳ (*Tithonia Diversifolia*), Ngọc cẩu (*Balanophora laxiflora*), Móc tai sapa

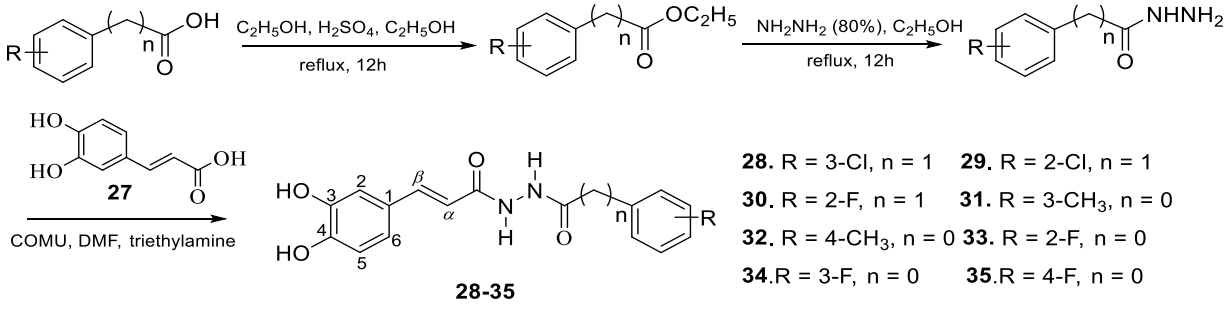
(*Impatiens chapaensis*), Côm hải nam (*Elaeocarpus hainanensis*), của Việt Nam, đã phát hiện được nhiều cấu trúc mới có hoạt tính kháng viêm và chống ung thư tủy xương rất tốt.

Trong quá trình hợp tác khoa học giữa Viện Hóa và Trường Đại học Y Perugia, Italy (GS. Domenico Delfino) theo hướng kết hợp Y học cổ truyền và Y học phương Tây (Integration of Traditional Medicine and Western) nhằm tìm chất có khả năng ứng dụng, gần đây nhóm nghiên cứu đã phân lập và xác định cấu trúc 4 hợp chất phenolic từ loài Ngọc cẩu (*Balanophora laxiflora*), gồm methyl gallate (**23**), 4-hydroxy-3 methoxy cinnamaldehyde (**24**), 3-methoxycinnamic acid (**25**), and methyl caffeate (**26**). Theo kết quả thu được từ việc khảo sát hoạt tính gây độc trên dòng tế bào ung thư tủy xương cấp (OCI-AML3) của bốn hợp chất phân lập này, ba hợp chất (**23**, **25** và **26**) gây ra hiện tượng chết tế bào theo chương trình (apoptosis) và giảm tăng sinh tế bào ung thư OCI-AML3. Điều thú vị là hợp chất **26** (tại nồng độ 15,62 µg/mL) làm giảm đáng kể tỷ lệ tế bào ở pha S và pha G_2/M và làm tăng apoptosis đáng kể đối với tế bào OCI-AML3 (Hình 8).[18]

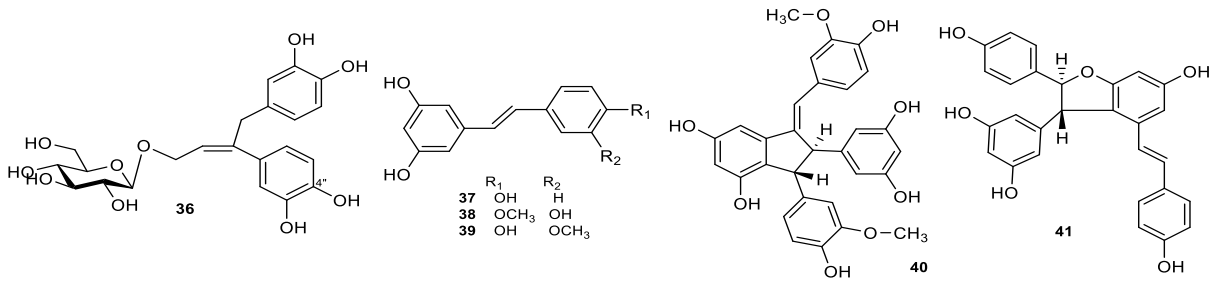


Hình 8. Cấu trúc của bốn hợp chất (**23-26**) phân lập từ loài Ngọc cẩu (*Balanophora laxiflora*)

Đáng chú ý là, hợp chất caffeic acid (**27**) được xác định là chất chính của loài Ngọc cẩu (*Balanophora laxiflora*). Từ hợp chất này, nhóm nghiên cứu đã tiến hành tổng hợp 8 dẫn xuất caffeyl benzohydrazide (**28-35**) và khảo sát hoạt tính kháng viêm thông qua khả năng ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW264.7. Các dẫn xuất fluorobenzoylhydrazide (**33**, **34** và **35**) được xác định cho khả năng ức chế NO mạnh nhất với giá trị IC_{50} trong khoảng 11,90-24,17 µM, tốt hơn cả chất chuẩn L-NMMA (IC_{50} = 32,8 µM). Kết quả nghiên cứu có thể làm tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn về các hợp chất này để sản xuất ra các loại thuốc chống viêm tiềm năng.[19]



Trong khi đó, việc tìm kiếm các chất có hoạt tính kháng viêm từ các loài thảo dược cũng đạt được những kết quả đáng ghi nhận. Điển hình là, từ loài Gắm cọng (*Gnetum latifolium*), phân lập được 1 chất mới 3,4-di-(3,4-dihydroxyphenyl)but-2-en-1-yl-*O*-*β*-D-glucopyranoside (**36**), và 5 chất đã biết khác, gồm *trans*-resveratrol (**37**), rhapontigenin (**38**), isorhapontigenin (**39**), gnetulin (**40**) và (+)-ε-viniferin(**41**). Kết quả sàng lọc hoạt tính kháng viêm cho thấy hợp chất **41** cho khả năng ức chế mạnh lên NO với giá trị IC_{50} = 4,85±0,20 µM, khi so sánh với chất chuẩn dexamethasone (IC_{50} = 14,20±0,54 µM) (Hình 9).[20]



Hình 9. Cấu trúc của sáu hợp chất (**36-41)** phân lập từ loài Gắm cọng (*Gnetumlatifolium*)

Ứng dụng khoa học và công nghệ vào thực tế: Quy trình chiết hỗn hợp phenolic từ lá cây Chay và hỗn hợp phenolic có hoạt tính kháng viêm thu được từ quy trình này (Bằng độc quyền giải pháp hữu ích (GPHI), số 2888, QĐ số 4638w/QĐ-SHTT, ngày 22/3/2022). Phương pháp chiết nhóm hợp chất sesquiterpen có hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào ung thư tủy xương cấp từ cây Cúc quỳ (Bằng độc quyền giải pháp hữu ích (GPHI), số 2961, QĐ số 11285w/QĐ-SHTT, ngày 06/7/2022).

***Đào tạo*:** Với hướng nghiên cứu này, Phòng Nghiên cứu phát triển dược phẩm đã hướng dẫn chính 02 NCS bảo vệ thành công luận án TS.

3. KẾT LUẬN

Thành tựu nghiên cứu khoa học đạt được của Phòng nghiên cứu phát triển dược phẩm có thể được tóm tắt dưới 05 công trình khoa học tiêu biểu sau:

+ *Công trình 1:* Quoc Anh Ngo*, Thuy Hang Nguyen Thi, Minh Quan Pham, Domenico Delfino* Thi Thao Do (**2021**). Antiproliferative and antiinflammatorycoxib–combretastatin hybrids suppress cell cycle progression and induce apoptosis of MCF7 breast cancer cells. *Molecular Diversity*, *25*, 2307-2319.[6] Nghiên cứu này đã áp dụng chiến lược lai ghép các nhóm dược lý quan trọng của hai hợp chất gốc celecoxib và combretastatin (CA4) trong một phân tử duy nhất và thu được 02 hợp chất có hoạt tính đa đích mạnh nổi trội khi đồng thời kháng viêm và ức chế tăng sinh tế bào *in vitro*. Kết quả cho thấy khung *cis*-diphenylethylene của celecoxib hoặc combretastatin A-4 cũng như các nhóm chức như trimethoxybenzene, ethylester và sulfonamide có thể được coi là các đặc điểm cấu trúc chính quyết định hoạt tính kép kháng u và kháng viêm của các hợp chất lai.

+ *Công trình 2*: Ngoc Binh Vo, Quoc Anh Ngo* (**2022**). Synthesis, antiinflammatory, and cytotoxic activity of novel pyrazolo [4,3-c][2,1] benzothiazine 4,4-dioxide derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 59(10), 1813-1823.[7] 15 hợp chất lai sultam-pyrazole mới kết hợp khung benzothiazine của piroxicam và arylpyrazolecủa celecoxib đã được tổng hợp, trong đó 08 dẫn xuất laisultam-pyrazole mới thể hiện khả năng kháng viêm *in vitro* mạnh hơn so với đối chứng dương và celecoxib, đặc biệt 04 chất có tác dụng kháng viêm mạnh hơn đối chứng trong khi hoàn toàn không có tác dụng độc tính tế bào. Các cấu trúc lai sultam-pyrazole mới đã đem đến sự cải thiện vượt trội về đặc tính chống viêm và độ an toàn trên các mô hình thử nghiệm *in vitro.*

+ *Công trình 3*: Le Anh Nguyen, Thai Duy Dang, Quoc Anh Ngo*, Thanh Binh Nguyen* (**2020**). Sulfur-Promoted Synthesis of Benzoxazoles from 2-Aminophenols and Aldehydes. *European Journal of Organic Chemistry*, *2020*(25), 3818-3821.[12] Một phương pháp hiệu quả để tổng hợp các 2-benzoxazole từ 2-aminophenol và aldehyde sử dụng lưu huỳnh nguyên tố thay thế oxy làm chất oxy hóa và $Na_2S·5H_2O$ làm chất xúc tác. So với các phản ứng tương tự sử dụng oxy làm chất oxy hóa, phương pháp này ưu việt hơn bởi tính đơn giản với thể tích phản ứng thấp, không cần thiết bị áp suất cao ngay cả đối với quy mô lớn hơn.

+ *Công trình 4*: Le Anh Nguyen, Thi Thu Tram Nguyen, Quoc Anh Ngo*, Thanh Binh Nguyen* (**2021**). Fe/S-Catalyzed synthesis of 2-benzoylbenzoxazoles and 2-quinolylbenzoxazoles via redox condensation of *o*-nitrophenols with acetophenones and methylquinolines. *Organic & Biomolecular Chemistry*, *19*(27), 6015-6020.[14] Sử dụng hệ xúc tác Fe/S *in situ* mô phỏng các metalloenzyme trong tự nhiên, chúng tôi đã thực hiện thành công phản ứng oxy hóa khử ngưng tụ giữa *o*-nitrophenol với acetophenone hoặc methylquinoline để thu được các 2-benzoylbenzoxazole và 2-quinolylbenzoxazole đáp ứng mô thức hóa học xanh.

+ *Công trình 5*: Nguyen Thi Thu Hoa, Ba Thi Cham, Nguyen Thi Hoang Anh, Nguyen Tuan Hiep, Nguyen Thi Kim Anh, Le Thi Hong Nhung, Sabrina Adorisio, Domenico V Delfino, Trinh Thi Thuy, Nguyen Thi Thuy Linh* (**2024**). Identification and nitric oxide production inhibitory activity of phenolic derivatives from the trunks of *Gnetumlatifolium*. Natural Product Research, 1-5 DOI: 10.1080/14786419.2024.2320729.[20] Sáu hợp chất thứ cấp, trong đó có 1 chất mới (2*E*-2,4-di (3,4-dihydroxyphenyl)but-2-en-1-yl-*O*-*β*-D-glucopyranoside) được phân lập và xác định cấu trúc từ loài Gắm lá rộng (*Gnetum latifolium*) thu hái tại Việt Nam. Nghiên cứu về hoạt tính kháng viêm của các hợp chất phân lập được cho thấy hợp chất (+)-ε-viniferin cho khả năng ức chế sản sinh NO rất tốt với giá trị IC_{50} đạt được là 4,85±0,20 µM, tốt hơn nhiều so với chất chuẩn dexamethasone (IC_{50} = 14,20±0,54 µM). Do đó, hợp chất (+)-ε-viniferin có thể đóng vai trò là cấu trúc dẫn đường cho việc nghiên cứu tổng hợp phát triển thuốc kháng viêm.

4. ĐỊNH HƯỚNG NGHIÊN CỨU TRONG TƯƠNG LAI

Trên cơ sở các thành tựu nghiên cứu đã đạt được, Phòng Nghiên cứu phát triển dược phẩm - Viện Hóa học tập trung triển khai định hướng các nghiên cứu trong tương lai như sau:

- Tiếp tục tìm kiếm phương pháp tổng hợp mới để tổng hợp các cấu trúc dị vòng mới chứa lưu huỳnh và nitơ mang tính đơn giản, hiệu quả, tiết kiệm, thân thiện môi trường và có thể triển khai trong sản xuất qui mô lớn.

- Thiết kế, tổng hợp các dẫn xuất mới từ các phân tử mang hoạt tính nổi bật như thuốc được cấp phép, hợp chất thiên nhiên định hướng ứng dụng trong dược phẩm và các lĩnh vực y sinh học khác.

- Nghiên cứu các phương pháp tổng hợp hữu cơ theo hóa học dòng chảy, ứng dụng trong tổng hợp hóa dược.

- Hướng nghiên cứu chiết tách các hợp chất có hoạt tính sinh học có nguồn gốc thiên nhiênsẽ được mở rộng các đối tượng nghiên cứu, với mục tiêu nhắm tới các giá trị cốt lõi của các loài thảo dược phục vụ đời sống dân sinh. Đồng thời, định hướng xây dựng các quy trình, công nghệ và các sản phẩm khoa học có ý nghĩa khoa học và giá trị thực tiễn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. N. B. Vo, L. A. Nguyen, T. L. Pham, D. T. Doan, T. B. Nguyen, Q. A. Ngo. Straight forward access to new vinca-alkaloids via selective reduction of a nitrile containing anhydrovinblastine derivative, *Tetrahedron Lett.*, **2017**, *58*, 2503-2506.
2. M. Q. Pham, N. B. Vo, T. N. Vu, T. T. Nguyen, Q. A. Ngo. Molecular docking studies of vinca alkaloid derivatives on tubulin, *Vietnam J. Chem.*, **2019**, *57*, 702-706.
3. Q. A. Ngo, L. A. Nguyen, N. B. Vo, T. H. Nguyen, F. Roussi, T. H. Nguyen, V. T. Nguyen. Synthesis and antiproliferative activity of new vinca alkaloids containing an *α,β*-unsaturated aromatic side chain, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 5597-5600.

4. G. Montag, H. Stoper, Q. A. Ngo, H. Hintzsche. The biological activity of the novel vinca alkaloids 4-chlorochablastine and 4-chlorochacristine, *Curr. Cancer Drug Targets*, **2019**, *19*, 222-230.

5. T. T. H. Nguyen, T. Y. Tran, L. A. Nguyen, N. B. Vo, Q. A. Ngo. Design, synthesis and biological activities of new pyrazole derivatives possessing both coxib and combretastatinspharmacophores, *Chem. Biodivers.*, **2019**, *16*, e1900108.

6. Q. A. Ngo, T. T. H. Nguyen, Q. M. Pham, D. Delfino, T. Do. Antiproliferative and anti-inflammatory coxib-combretastatin hybrids suppress cell cycle progression and induce apoptosis of MCF7 breast cancer cells, *Mol. Divers*., **2020**, *25*, 2307-2319.

7. N. B. Vo, Q. A. Ngo. Synthesis, antiinflammatory, and cytotoxic activity of novel pyrazolo[4,3-c][2,1]benzothiazine 4,4-dioxide derivatives, *J. Heterocycl. Chem.*, **2022**, *59*, 1813-1823.

8. N. B. Vo, S. Adoriso, D. V. Delfino, Q. A. Ngo. New 1,4-Dihydropyrazolo[4,3-b]indoles induce antiproliferation of acute myeloid leukemia cells and inhibition of selective inflammatory cytokines, *Nat. Prod. Commun.* **2022**, *17*.

9. T. T. H. Nguyen, T. Y. Tran, D. H. Vu, Q. A. Ngo. Synthesis and cytotoxicity of new 4-aza-2,3-didehydropodophyllotoxins, *Vietnam J. Sci. Technol.*, **2022**, *60*, 183-190.

10. T. T. H. Nguyen, L. A. Nguyen, M. Q. Pham, N. B. Vo, Q. A. Ngo. Multicomponent synthesis of new 5-thiourea-4-aza-2,3-didehydropodophyllotoxins as potent cytotoxic agents, *J. Heterocycl. Chem.*, **2023**, *60*, 834-846.

11. L. A. Nguyen, Q. A. Ngo, P. Retailleau, T. B. Nguyen. Elemental sulfur as a polyvalent reagent in redox condensation with o-chloronitrobenzenes and benzaldehydes: three-component access to 2-arylbenzothiazoles, *Green Chem.*, **2017**, *19*, 4289-4293.

12. L. A. Nguyen, T. D. Dang, Q. A. Ngo, T. B. Nguyen. Sulfur-promoted synthesis of benzoxazoles from 2-aminophenols and aldehydes, *Eur. J. Org. Chem.*, **2020**, *25*, 3818-3821.

13. L. A. Nguyen, Q. A. Ngo, P. Retailleau, T. B. Nguyen. Break-and-build strategy for the synthesis of 2-benzoylbenzoxazoles from o-aminophenols and acetophenones, *ASC*, **2021**, *363*, 2098-2103.

14. L. A. Nguyen, T. T. T. Nguyen, Q. A. Ngo, T. B. Nguyen. Fe/S-Catalyzed synthesis of 2-benzoylbenzoxazoles and 2-quinolylbenzoxazoles via redox condensation of o-nitrophenols with acetophenones and methylquinolines, *OBC*, **2021**, *19*, 6015-6020.

15. L. A. Nguyen, S. Phaenok, D. L. Le, T. T. T. Nguyen, Q. A. Ngo, T. B. Nguyen. Fe/S-Catalyzed redox condensation of *o*-nitrophenols with sothiocyanates to 2-aminobenzo-xazoles, *Org. Lett.*, **2023**, *25*, 5145-5150.

16. T. T. T. Nguyen, L. A. Nguyen, Q. A. Ngo, M. Koleski, T. B. Nguyen. The catalytic role of elemental sulfur in the DMSO-promoted oxidative coupling of methylhetarenes with amines: synthesis of thioamides and bis-aza-heterocycles, *Org. Chem. Front.*, **2021**, *8*, 1593-1598.

17. L. A. Nguyen, T. T. T. Nguyen, Q. A. Ngo, T. B. Nguyen. Sulfur-catalyzed oxidative condensation of aryl alkyl ketones with o-phenylenediamines: access to quinoxalines, *ASC*, **2022**, *364*, 2748-2752.

18. T. T. Thuy, T. C. Ba, N. T. T. Linh, T. N. B. Phan, S. Adorisio, D. V. Delfino. Phenolic acid analogues from *Balanophoralaxiflora* inhibit proliferation of *in vitro* acute myeloid leukemia cells, *Rec. Nat. Prod.*, **2022**, *16*, 253-258.

19. T. T. Thuy, N. T. T. Linh, T. T. H. Nguyen, T. C. Ba, D. Q. Tran, T. T. Do, T. H. A. Nguyen, M. Q. Pham, D. V. Delfino, K. V. Tran. Novel trans-caffeate hydrazide derivatives: synthesis, inhibition of nitric oxide (NO) production and molecular docking studies, *Nat. Prod. Res.*, **2023**, *38*, 1-8.

20. N. T. T. Hoa, T. C. Ba, T. H. A. Nguyen, T. H. Nguyen, T. K. A. Nguyen, T. H. N. Le, S. Adorisio, D. V. Delfino, T. T. Trinh, N. T. T. Linh. Identification and nitric oxide production inhibitory activity of phenolic derivatives from the trunks of *Gnetum latifolium*, *Nat. Prod. Res.*, **2024**, 1-5.

Liên hệ: **Ngô Quốc Anh**
Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: ngoqanh@ich.vast.vn.

COLLAGEN TỪ VẢY CÁ CHÉP (*Cyprinus carpio*): MỘT SỐ ĐẶC TRƯNG TÍNH CHẤT VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC

Nguyễn Thúy Chinh, Nguyễn Thị Thu Trang, Nguyễn Vũ Giang, Thái Hoàng*

Viện Kỹ thuật nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam,
18, Hoàng Quốc Việt, Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

Báo cáo này trình bày các kết quả nghiên cứu một số đặc trưng, tính chất của collagen chiết tách từ vảy cá chép (*Cyprinus carpio*), khả năng tương thích sinh học và hoạt tính sinh học của nó. Phương pháp hóa sinh được áp dụng để chiết tách collagen từ vảy cá ở điều kiện nhiệt độ 4 ^{o}C. Collagen thu được được tạo màng bằng phương pháp in 3D. Phương pháp SDS-PAGE được sử dụng để xác định khối lượng phân tử của collagen. Các phương pháp đặc trưng gồm phổ hồng ngoại, góc tiếp xúc nước, độ bền cào xước, hiển vi điện tử quét, hiển vi kim tương được sử dụng để đánh giá các tính chất, hình thái cấu trúc của collagen thu được. Khả năng tương thích sinh học của collagen với dung dịch mô phỏng dịch cơ thể (SBF) được đánh giá bằng phương pháp phổ hấp thụ tử ngoại - khả kiến. Bên cạnh đó, hoạt tính sinh học của collagen gồm khả năng kháng viêm và khả năng đông máu cũng được đánh giá. Kết quả thu được cho thấy màng collagen thu được có chứa các nhóm chức amide đặc trưng của collagen loại I với khối lượng phân tử khoảng 116 kDa, có bề mặt ưa nước, độ bền cào xước đạt 133,33±28,87 g. Màng collagen có khả năng tan trong dung dịch SBF, có hoạt tính kháng viêm và gây đông máu.

Từ khóa: Vảy cá nước ngọt, enzyme pepsin, phương pháp hóa sinh, hoạt tính kháng viêm, đông máu.

1. MỞ ĐẦU

Collagen là một loại protein cơ bản cấu thành cấu trúc da, xương và các mô liên kết. Trong những năm gần đây, collagen có nguồn gốc từ các động vật ở dưới nước ngày càng thu hút sự quan tâm của các nhà khoa học.[1,2] Đã có một số nghiên cứu chiết tách các loại collagen từ vảy cá chép.[3-5] Các loại collagen này là collagen loại I, có thành phần amino acid tương tự như collagen chiết tách từ động vật có vú, tuy nhiên có nhiệt độ biến tính thấp hơn so với collagen chiết tách từ da lợn.[3,4] Collagen cá có nhiều đặc tính tốt hơn so với collagen từ động vật, trong đó nổi bật là độ hấp thu cao và độ ổn định cao hơn. Nó có thể bám dính tốt với tế bào nhờ vào cấu trúc hình học tương tự. Đồng thời collagen cá có tính ưa nước cao và khả năng cầm máu.[6] Đã có một số nghiên cứu phát triển các vật liệu cầm máu từ collagen cá. Cụ thể, nghiên cứu của Lei Wang và cộng sự đã sử dụng collagen loại I chiết tách từ da cá rô phi để làm bọt biển cầm máu. Collagen này có thể kết hợp với các vị trí cụ thể trên bề mặt hồng cầu và tiểu cầu, nhanh chóng kích hoạt tiểu cầu và hệ thống đông máu để tạo thành cục máu đông. Kết quả thử nghiệm *in-vitro* và *in-vivo* cho thấy bọt biển collagen cá có tốc độ đông máu nhanh và ít chảy máu trong quá trình cầm máu của động mạch tai thỏ và vết thương trên gan chuột.[7] Liu và cộng sự đã chế tạo bọt biển trên cơ sở carboxymethyl chitosan và collagen cá theo tỷ lệ khối lượng 6/1 thông qua các chu kỳ đông lạnh - tan rã và đông khô.[2] Mẫu bọt biển thu được có cấu trúc xốp cao (độ xốp ≥ 90 %), có môđun nén đạt 0,3 MPa, độ bền kéo đứt đạt 0,004 MPa và tỷ lệ trương nở cao (khoảng 3,5 %). So với băng gạc truyền thống, mẫu bọt biển này có thể rút ngắn đáng kể thời gian chảy máu và lượng máu chảy. Jiayi Guo và cộng sự đã kết hợp collagen từ da cá (FSC) với tinh bột hòa tan (SS) và polyvinylalcohol (PVA) để tạo bông composite PVA/SS-FSC cầm máu.[8] Vật liệu bông composite chế tạo ở tỷ lệ PVA/SS/FSC là 1/1/1 cho cấu trúc 3-D xốp, độ hấp thụ nước cao, không gây độc với tế bào

hay gây tan máu. Kết quả thử nghiệm *in-vitro* và *in-vivo* đã chỉ ra bông cầm máu PVA/SS-FSC làm tăng tốc độ đông máu, giảm mất máu và cải thiện hiệu quả cầm máu. Các thử nghiệm cầm máu động mạch ở chuột cho thấy bông cầm máu PVA/SS-FSC có thời gian cầm máu ngắn hơn và lượng máu mất ít hơn so với gạc cầm máu thương mại (thời gian cầm máu là 64 giây so với 210 giây) và (lượng máu mất là 323 mg so với 840 mg). Do đó, bông cầm máu PVA/SS/FSC rất tiềm năng làm vật liệu cầm máu vết thương. Hu và cộng sự đã chỉ ra peptide collagen biển ở nồng độ 50 $\mu g.mL^{-1}$ đã thúc đẩy quá trình đóng vết thương sau 12 giờ điều trị.[9] Yang và cộng sự đã chiết tách collagen peptide từ da cá Alaska Pollock, loại collagen này giúp tăng tỷ lệ phục hồi đáng kể cho chuột khi so với nhóm đối chứng.[10] Chen và cộng sự cũng đã chứng minh collagen biển có hiệu quả trong phục hồi vết thương nhanh hơn so với collagen bò.[11] Nghiên cứu cũng phát hiện ra rằng hydroxyproline của collagen, chất thúc đẩy quá trình tái tạo biểu mô, có ảnh hưởng đáng kể đến tốc độ chữa lành vết thương. So với các nhóm đối chứng, các nhóm được điều trị bằng collagen có nhiều nguyên bào sợi hơn, mạch máu cao hơn, ít viêm hơn và nhiều sợi collagen hơn.

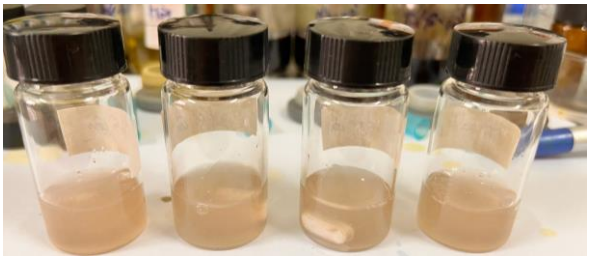
Ở trong nước đã có một số công trình nghiên cứu chiết tách collagen từ nguồn động vật dưới nước như collagen từ da cá tra,[12,13] da cá thát lát còm,[14] da cá lóc,[15] từ da cá da trơn,[16] từ sứa.[17] Nhóm tác giả Trần Minh Tâm và Phạm Nguyễn Duy Bình ở Trường Đại học Văn Lang đã nghiên cứu chế tạo màng sinh học collagen trị bỏng từ da cá da trơn. Kết quả thử nghiệm lâm sàng trên chuột cho thấy khả năng điều trị bỏng của màng sinh học collagen từ da cá da trơn.[16]

Như vậy, collagen từ động vật dưới nước, đặc biệt là collagen từ cá có các đặc tính quý báu, có tiềm năng ứng dụng cao trong các lĩnh vực y sinh và đời sống. Trong báo cáo này, chúng tôi trình bày các kết quả nghiên cứu các đặc trưng, tính chất, hình thái cấu trúc, khả năng tương thích sinh học và hoạt tính sinh học của collagen chiết tách từ vảy cá chép (*Cyprinus carpio*).

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Collagen chiết tách từ vảy cá chép (*Cyprinus carpio*) được chiết tách tại Phòng Hóa lý vật liệu phi kim loại, Viện Kỹ thuật nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam theo quy trình trình bày trong tài liệu tham khảo.[18] Cụ thể, vảy cá chép được thu mua từ cơ sở sản xuất cá kho ở Hà Nam vào tháng 6/2024, được rửa sạch và cấp đông trước khi sử dụng. Vảy cá được xử lý tách béo và tạp chất với dung dịch NaOH 0,5 M trong 8 giờ, sau đó được tách khoáng bằng hỗn hợp dung dịch H_2SO_4 0,5 M, HCl 0,2 M trong 20 phút. Sau đó, collagen được tách từ vảy cá đã tách khoáng bằng dung dịch acid acetic 0,5 M và enzyme pepsin (2% khối lượng so với khối lượng vảy cá) trong 24 giờ. NaCl rắn (10%) được thêm vào dung dịch collagen để kết tủa collagen. Sau khi collagen kết tủa, collagen được tách ra khỏi dung dịch bằng li tâm và thẩm tích với nước cất để thu collagen tinh ở dạng gel. Tỷ lệ khối lượng vảy cá/dung dịch xử lý là 300 g/6 L. Quá trình chiết tách collagen từ vảy cá được tiến hành trong bể điều nhiệt ở nhiệt độ 4 ^oC. Hình 1 là ảnh collagen dạng gel thu được sau quá trình chiết tách từ vảy cá chép.



Hình 1. Collagen dạng gel được chiết tách từ vảy cá chép

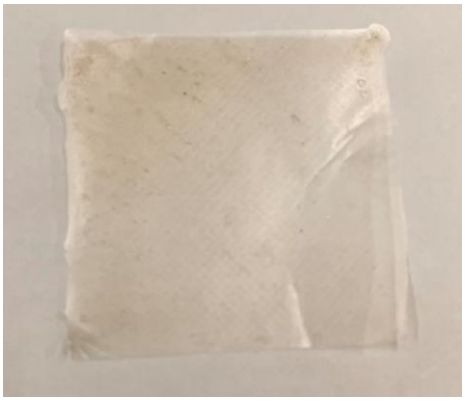
2.2. Chế tạo mẫu màng collagen

Để làm khô collagen, có thể sử dụng các phương pháp như đông khô hoặc in 3D. Trong nghiên cứu này, phương pháp in 3D để làm khô collagen đã được sử dụng. Collagen ở dạng gel được in trên khay chứa mẫu ở nhiệt độ phòng trên thiết bị in 3D (được chế tạo bởi Viện Kỹ thuật nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam). Nồng độ collagen trong mẫu là 0,126 g/19,874 g nước cất.

Đầu tiên, mẫu in được thiết kế với kích thước 50×50×0,4 mm trên máy tính bằng phần mềm Solidworks và được lưu dưới dạng tệp *.stl. Tiếp theo, mẫu in được tính toán tạo tệp g-code cho máy in trên phần mềm KISSlicer với các thông số thiết lập cơ bản như sau:

- Độ dày lớp in: 0,2 mm;
- Độ rộng đường in: 0,6 mm;
- Độ phủ: 100%;
- Độ rộng đường phủ: 0,6 mm;
- Đường kính xi lanh: 11,5 mm;
- Nhiệt độ bàn in: nhiệt độ phòng;
- Tốc độ in: 20 mm/giây.

Tệp tin thiết kế (g-code) sau đó được sử dụng để điều khiển máy in 3D dạng Direct ink writing (DIW) để in các mẫu lên trên đế đặt trên bàn in. Hình 2 là ảnh màng collagen sau khi in 3D và để khô tự nhiên.



Hình 2. Hình ảnh màng collagen in 3D

2.3. Các phương pháp đặc trưng

Phổ hồng ngoại (IR)

Phổ IR của màng collagen được đo trên thiết bị Nicolet iS10 (Thermo Scientific, Mỹ) tại Viện Kỹ thuật nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (ITT, VAST) ở nhiệt độ phòng trong khoảng số sóng từ 4000 cm^{-1} tới 400 cm^{-1}, số lần quét là 32 lần, độ phân giải 8 cm^{-1}.

Xác định khối lượng phân tử của collagen bằng phương pháp SDS-PAGE

Kỹ thuật điện di đứng trên gel polyacrylamide có sử dụng sodium dodecyl sulfate (SDS-PAGE) được sử dụng để xác định khối lượng phân tử của collagen. Mẫu collagen được xác định khối lượng phân tử bằng kỹ thuật SDS-PAGE tại Viện Công nghệ sinh học, VAST theo phương pháp của Laemmli.[19] Các hoá chất điện di biến tính protein có độ tinh sạch cao được mua từ Sigma Aldrich, Marker protein chuẩn của Sigma Aldrich.

Hiển vi điện tử quét (SEM)

Ảnh SEM của màng collagen được ghi/chụp trên thiết bị FESEM-S-4800 (Hitachi, Nhật Bản) tại Viện Khoa học vật liệu, VAST. Mẫu được phủ Pt trước khi chụp để tăng độ dẫn.

Hiển vi kim tương (IMM)

Ảnh IMM của màng collagen in 3D trên lam kính được chụp trên kính hiển vi nghiên cứu kim tương GX53 (Olympus, Nhật Bản) tại ITT, VAST.

Góc tiếp xúc nước (WCA)

Góc tiếp xúc nước của màng collagen in 3D trên lam kính được đo trên thiết bị OCA50 (Dataphysics, Đức) tại ITT, VAST. Mẫu được đo 3 lần và lấy giá trị trung bình.

Độ bền cào xước

Độ bền cào xước của màng collagen in 3D trên lam kính được đo trên thiết bị Elcometer 3000 (VK26267, Anh) tại ITT, VAST. Mẫu được đo 3 lần và lấy giá trị trung bình.

Phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (UV-Vis)

Khả năng tương thích sinh học của màng collagen trong dung dịch mô phỏng dịch cơ thể người (SBF).[20] Màng collagen được ngâm trong dung dịch SBF và ghi phổ UV-Vis sử dụng thiết bị quang phổ UV-Vis (Libra S80, Biochrom, Anh) tại ITT, VAST.

Thử nghiệm hoạt tính kháng viêm (Hoạt tính ức chế sản sinh nitrogen oxide (NO) trên tế bào RAW264.7)

Hoạt tính kháng viêm của màng collagen được đánh giá thông qua khả năng ức chế sản sinh NO[21] trên dòng tế bào RAW264.7 (American Type Culture Collection, Manassas, VA, Mỹ) tại Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, VAST. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần và lấy giá trị trung bình. Tế bào RAW264.7 được nuôi cấy 48 giờ trong môi trường Dulbecco's Modified Eagle Medium (Sigma) ở 37 ^oC, 5% CO_2, 10% Fetal Bovine Serum (Sigma). Sau đó dịch tế bào được chuyển lên giếng phiến 96 với mật độ $2,5\times10^5$ tế bào/giếng. Tế bào được kích thích với 10 µL lipopolysacharide (Sigma) (20 µg/mL) trong 24 giờ và bổ sung thuốc/chất thử các nồng độ khác nhau. Cardamonin được sử dụng làm đối chứng (+). Dịch huyền phù của tế bào được ủ với thuốc thử Griess, $NaNO_2$ (Sigma) ở các nồng độ khác nhau để xây dựng đường chuẩn. Đo phổ UV-Vis của hỗn hợp phản ứng ở λ_{max} = 570 nm.

Tỷ lệ ức chế sản sinh NO (%) được xác định theo công thức:

$$\%UC = ([XTB]mẫu - [XTB]LPS)/([XTB]ĐC - [XTB]LPS) \times 100 \quad (1)$$

trong đó: [XTB] là nồng độ NO trung bình tính dựa trên đường chuẩn $NaNO_2$.

Phần tế bào còn lại sau khi đã sử dụng để đánh giá các hoạt tính *in vitro* được bổ sung dung dịch (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) (Sigma) (0,5 mg/mL trong PBS), ủ 4 giờ trong tủ ấm 5% CO_2 ở 37 ^oC. Sản phẩm chuyển hóa dạng tinh thể formazan được hòa tan trong dimethyl sulfoxide (Sigma) và đo mật độ quang ở λ = 540/720 nm trên thiết bị Infinite F50 (Tecan, Männedorf, Thụy Sỹ).

Tỷ lệ sống sót của tế bào CS % (Cell survival) tính theo % so với đối chứng:

$$\text{Tỷ lệ ức chế tế bào (\%)} = [(OD[mẫu]/OD[đối chứng (-)]) \times 100] \pm \sigma \quad (2)$$

Giá trị IC_{50} được tính toán dựa trên nồng độ ức chế 50% sự phát triển của tế bào.

Nghiên cứu tác dụng cầm máu

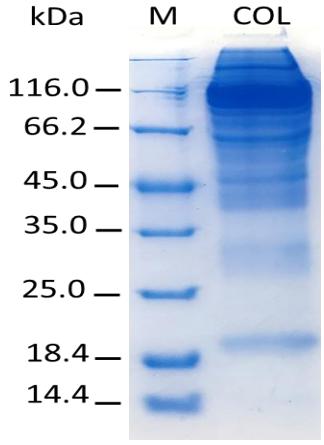
1 mL máu toàn phần được nhỏ giọt trực tiếp từ đường tĩnh mạch (lấy tại vùng mặt trước khuỷu tay) vào một bộ ống 5 mL chứa 3,5 mg màng collagen hoặc không có gì (nhóm

chứng). Sau khi 1 mL máu được đưa vào ống, nó được đậy nắp và từ từ đảo ngược liên tục cho đến khi hình thành cục máu đông. Số giây cho đến khi hình thành cục máu đông được ghi lại cho mỗi ống [22]. Thí nghiệm này được tiến hành tại Học viện Quân y.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khối lượng phân tử của collagen

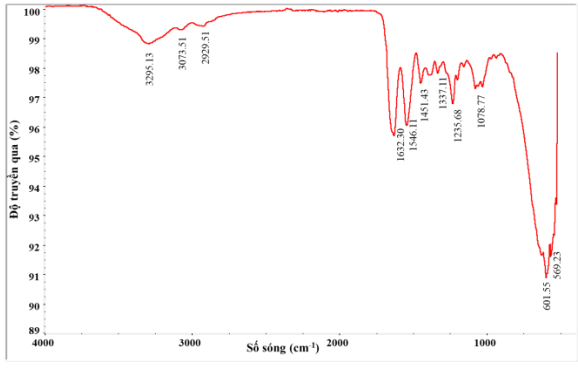
Kết quả điện di SDS-PAGE của màng collagen được trình bày trên Hình 3. Có thể thấy trên bản gel xuất hiện nhiều băng protein, chứng tỏ màng collagen có chứa nhiều loại protein có trọng lượng phân tử khác nhau. Trong đó có 3 băng protein dày và đậm nhất thể hiện cho 3 loại protein có hàm lượng lớn nhất trong mẫu và có kích thước phân tử khoảng trên dưới xấp xỉ 116 kDa. Ngoài ra còn có một số băng protein khác ở vị trí kích thước khoảng trên 116 kDa, khoảng gần 65 kDa, khoảng 47 kDa và khoảng 20 kDa cho thấy các protein này cũng có một hàm lượng vừa phải ở trong mẫu. Bằng phương pháp hóa sinh, dưới tác dụng của enzyme pepsin, các chuỗi collagen trong vảy cá bị thủy phân thành các protein có khối lượng phân tử thấp hơn, chủ yếu là protein có khối lượng phân tử 116 kDa, tương tự với các nghiên cứu khác đã công bố về collagen vảy cá.[23-25]



Hình 3. Kết quả điện di SDS-PAGE của collagen

3.2. Phổ hồng ngoại

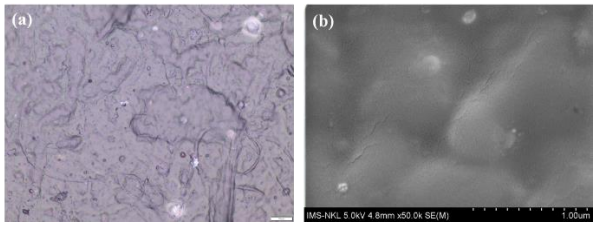
Hình 4 là phổ IR của màng collagen. Quan sát phổ IR, có thể thấy xuất hiện các pic đặc trưng cho dao động của các nhóm amide A, amide B (3295 cm^{-1}, 3073 cm^{-1}), CH (2929 cm^{-1}), amide bậc I (1632 cm^{-1}), amide bậc II (1546 cm^{-1}) và amide bậc III (1235 cm^{-1}, 1078 cm^{-1}). Đây là các nhóm chức đặc trưng của collagen chiết tách từ cá như được công bố bởi một số tác giả khác.[3,4,25,26]



Hình 4. Phổ IR của màng collagen in 3D

3.3. Hình thái cấu trúc

Hình 5 trình bày ảnh IMM và SEM của collagen. Ở độ phóng đại thấp hơn, có thể quan sát thấy collagen có cấu trúc dạng sợi (Hình 5a). Ở độ phóng đại cao hơn, collagen có cấu trúc đồng nhất (Hình 5b).

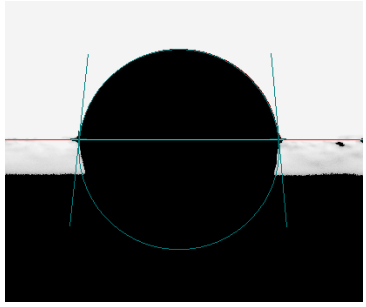


Hình 5. Ảnh IMM (a) và SEM (b) của màng collagen in 3D

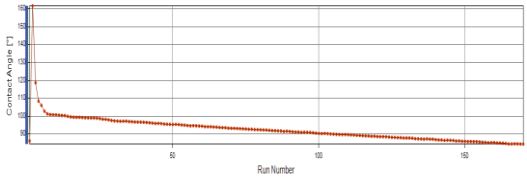
3.4. Góc tiếp xúc nước

Góc tiếp xúc nước của màng collagen in 3D trên lam kính và đồ thị biến đổi góc tiếp xúc nước theo thời gian của màng collagen được trình bày trên Hình 6. Có thể thấy collagen có góc tiếp xúc nước khá ổn định, 83,8^o±0,2^o, thể hiện màng collagen có tính ưa nước. Hình 6B cho thấy tốc độ thấm nước vào màng collagen khá chậm và đạt ổn định sau 150 lần đếm.

(A)



(B)



Hình 6. Hình ảnh giọt nước trên bề mặt màng collagen in 3D trên lam kính (A) và đồ thị biến đổi góc tiếp xúc nước theo thời gian của màng collagen (B)

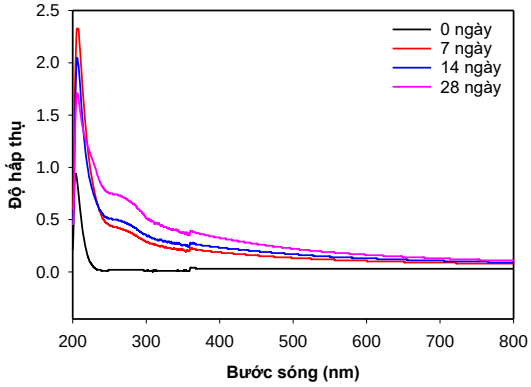
3.5. Độ bền cào xước

Độ bền cào xước của màng collagen có chiều dày là 6,72±0,73 µm là 133,33±28,87 g. Điều này cho thấy màng collagen có khả năng chống cào xước.

3.6. Khả năng tương thích sinh học

Hình 7 trình bày phổ UV-Vis của màng collagen ngâm trong dung dịch mô phỏng dịch cơ thể người (SBF) theo thời gian khảo sát khác nhau.

Có thể thấy, màng collagen có khả năng tan một phần trong dung dịch SBF, tương ứng với sự tăng độ hấp thụ ở bước sóng khoảng 275-280 nm, đặc trưng cho collagen.[26,27] Điều này cho thấy màng collagen có khả năng tương thích sinh học.



Hình 7. Phổ UV-Vis của màng collagen in 3D ngâm trong dung dịch SBF

3.7. Khả năng kháng viêm

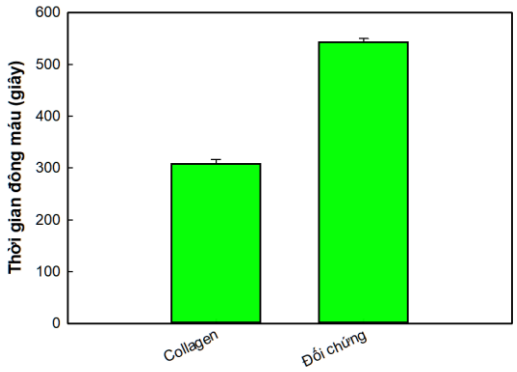
Kết quả trong Bảng 1 cho thấy màng collagen có thể hiện hoạt tính kháng viêm sau khi đánh giá khả năng ức chế sản xuất NO trên tế bào RAW264.7. So sánh với collagen tách chiết từ da *salmo salar*, ở nồng độ 400 µg/mL có khả năng ức chế 41,48% NO,[28] mẫu màng collagen in 3D trong nghiên cứu này có khả năng kháng viêm khá tốt, với khả năng ức chế sự sản sinh NO 78,33% ở nồng độ 256 µg/mL. Giá trị IC_{50} của collagen đạt 163,08 µg/mL. Kết quả ở Bảng 1 cũng chỉ ra màng collagen không gây độc đối với tế bào RAW264.7, với tỷ lệ tế bào sống sót đạt trên 94% ở nồng độ thử nghiệm cao nhất của mẫu là 256 µg/mL.

Bảng 1. Khả năng kháng viêm của màng collagen

Mẫu	Nồng độ	Tỷ lệ ức chế tế bào (%)	Phần trăm tế bào sống sót (%)
Control (-) [DMSO]	1%	-	104,76±0,15
Control (+) [Cardamonin]	0,3 µM	45,85±2,12	86,47±0,21
	3,0 µM	86,93±0,96	71,80±0,51
LPS	1 µg/mL	0,00±0,90	100,00±0,13
Màng collagen in 3D	256 µg/mL	78,33±0,18	94,10±0,11
	128 µg/mL	40,56±0,37	98,18±0,51
	64 µg/mL	18,33±0,11	101,99±0,05

3.8. Khả năng đông máu

Kết quả trên Hình 8 cho thấy collagen có khả năng làm đông máu với thời gian đông máu đạt 307,2±9,1 giây, giảm 43,4% so với mẫu đối chứng. So với collagen loại I (được chiết tách từ gân bò Achilles) ở dạng sợi micro nghiền ra từ bọt biển collagen có thời gian đông máu khoảng 60 giây,[29] collagen trong nghiền cứu này có thời gian đông máu lớn hơn. Tuy nhiên, sự khác biệt trong kết quả có thể do sự khác biệt trong phương pháp thử. Mẫu màng collagen in 3D trong nghiên cứu này được cân 3,5 mg và cho tiếp xúc trực tiếp với 1 mL máu, trong khi 0,02 g mẫu sợi micro collagen được hòa tan trong 10 mL dung dịch nước muối sinh lý trước khi thêm 0,2 mL máu vào. Nhìn chung, kết quả của nghiên cứu này cho thấy collagen từ vảy cá có khả năng gây đông máu. Điều này mở ra tiềm năng ứng dụng của collagen từ vảy cá làm vật liệu cầm máu.



Hình 8. Thời gian đông máu của màng collagen in 3D so với mẫu đối chứng

4. KẾT LUẬN

Collagen chiết tách từ vảy cá chép (*Cyprinus carpio*) có khối lượng phân tử 116 kDa, là collagen loại I, chứa các nhóm chức amide đặc trưng. Màng collagen in 3D có cấu trúc đồng đều, có khả năng chống cào xước, có bề mặt ưa nước. Collagen có khả năng tương thích tốt với dịch mô phỏng cơ thể người, kháng viêm tốt với giá trị IC_{50} là 163,08 µg/mL. Nó có khả năng kích thích giọt máu đông với thời gian đông máu giảm 43,4% so với mẫu đối chứng. Các kết quả nghiên cứu này mở ra tiềm năng ứng dụng của collagen chiết tách từ vảy cá nước ngọt trong các lĩnh vực y sinh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. W. V. Sathyaraj, Y. R. Pravin, L. Prabakaran, A. Gokulnath, J. Bhoopathy, S. Rajendran. Therapeutic potency of marine collagen/pectin scaffolds - Fabrication, characterization and evaluation, *Eur. J. Pharmacol.*, **2024**, *984*, 177066.
2. W. Liu, C. Yang, R. Gao, C. Zhang, W. O. Yang, Z. Feng, C. Zhang, X. Pan, P. Huang, D. Kong, W. Wang. Polymer composite sponges with inherent antibacterial, hemostatic, inflammation-modulating and proregenerative performances for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-infected wound healing, *Adv. Health. Mat.*, **2021**, *10*, e2101247.
3. Z. Fengxiang, W. Anning, L. Zhihua, H. Shengwen, S. Lijun. Preparation and characterisation of collagen from freshwater fish scales, *Food Nut. Sci.*, **2011**, *2*(8), 28112.
4. N. T. Chinh, V. Q. Manh, V. Q. Trung, T. D. Lam, M. D. Huynh, N. Q. Tung, N. D. Trinh, T. Hoang. Characterization of collagen derived from tropical freshwater carp fish scale wastes and its amino acid sequence, *Nat. Product. Commun.*, **2019**, *14*(7).
5. Z. Fei, J. Miaomiao, L. Yijun, H. Yongqing, Y. Weifeng, W. Hao, Z. Ming, H. Shuying, W. Yuanqing, L. Rui. Carp scales derived double cross-linking hydrogels achieve collagen peptides sustained-released for bone regeneration, *Int. J. Biol. Macromol.*, **2024**, *255*, 128276.
6. T. Silva, J. M. Silva, A. Marques, A. Domingues, Y. Bayon, R. Reis. Marine origin collagens and its potential applications, *Mar. Drugs*, **2014**, *12*, 5881-5901.
7. L. Wang, W. Li, Y. Qu, K. Wang, K. Lv, X. He, S. Qin. Preparation of super absorbent and highly active fish collagen sponge and its hemostatic effect *in vivo* and *in vitro*, *Front. Bioeng. Biotechnol.*, **2022**, *10*, 862532.

8. G. Jiayi, L. Qun, C. Jun, F. Xin, Z. Yucang, Y. Huan. Hemostatic cotton based on biocompatible poly(vinyl alcohol)/soluble starch-fish skin collagen composites, *Mater. Today. Commun.*, **2022**, *32*, 103812.

9. Z. Hu, P. Yang, C. Zhou, S. Li. Marine collagen peptides from the skin of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): characterization and wound healing evaluation, *Mar. Drugs*, **2017**, *15*, 102.

10. T. Yang, K. Zhang, B. Li, H. Hou. Effects of oral administration of peptides with low molecular weight from Alaska Pollock (*Theragra chalcogramma*) on cutaneous wound healing, *J. Funct. Foods*, **2018**, *48*, 682-691.

11. J. Chen, K. Gao, S. Liu, S. Wang, J. Elango, B. Bao, J. Dong, N. Liu, W. Wu. Fish collagen surgical compress repairing characteristics on wound healing process *in vivo*, *Mar. Drugs*, **2019**, *17*, 33.

12. L. T. T. Hương, N. H. Dũng, P. Đ. Tuấn. Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố công nghệ đến hiệu suất trích ly collagen từ da cá tra (*Pangasius hypophthalmus*), *Tạp chí Khoa học Lạc Hồng*, **2017**, *số đặc biệt*, 153-158.

13. T. T. Huyền, N. A. Tuấn, H. N. Anh, V. L. Quyên. Tách chiết collagen từ da cá tra (*Pangasius hypophthalmus*) bằng phương pháp hóa học, *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thuỷ sản - Trường Đại học Nha Trang*, **2012**, *2*, 31.

14. L. T. M. Thủy, T. T. M. Thu. Nghiên cứu ảnh hưởng của phương pháp xử lý đến chất lượng và hiệu suất thu hồi collagen từ da cá thát lát còm (*Chitala ornata*), *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, **2020**, *383*(2), 65-73.

15. T. T. M. Thu, N. D. Quỳnh, T. T. Trúc, L. T. M. Thủy. Nghiên cứu điều kiện tiền xử lý và chiết tách collagen từ da cá lóc (*Channa striata*) bằng pepsin, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, **2021**, *57* (6B), 178-188.

16. T. M. Tâm, P. N. D. Bình. Thu nhận màng sinh học collagen điều trị bỏng từ nguồn phế liệu công nghiệp chế biến thực phẩm, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Văn Lang*, **2017**, *1*, 85-92.

17. Nghiên cứu chiết xuất collagen từ sứa biển bằng công nghệ enzyme, https://vast.gov.vn/tin-chi-tiet/-/chi-tiet/nghien-cuu-chiet-xuat-collagen-tu-sua-bien-bang-cong-nghe-enzyme-12302-432.html (truy cập ngày 20/12/2024).

18. N. T. Chinh, T. H. Nghia, H. H. Tuan, V. Q. Manh, V. Q. Trung, T. C. Doanh, T. Hoang. Study on characteristic of collagen extracted from fresh-water fish scales by bio-chemical method, *Vietnam J. Chem.*, **2020**, *58*(5E12), 308-315.

19. Z. Li-Juan, F. Xu-Sheng, L. Hong-Guo, Q. Dong-Jin, Z. Li, Y. Xi-Ling, C. Fu-Zhai. Hydroxyapatite/collagen composite materials formation in simulated body fluid environment, *Mater. Lett.*, **2004**, *58* (5), 719-722.

20. X. Yaru, A. Lijun, Y. Xueyuan, S. Ziteng, Z. Jie, T. Muhetaer, J. Da-Qing, O. Yasushi, L. Dongho, X. Jing, G. Yuanqiang. NO inhibitory phytochemicals as potential anti-inflammatory agents from the twigs of *Trigonostemon heterophyllus*, *Bioorganic Chem.*, **2019**, *87*, 417-424.

21. F. Viola, F. W. Mauldin Jr, X. Lin-Schmidt, D. M. Haverstick, M. B. Lawrence, W. F. Walker. A novel ultrasound-based method to evaluate hemostatic function of whole blood, *Clinica Chimica Acta*, **2010**, *411*(1-2), 106-113.

22. T. Ikoma, H. Kobayashi, J. Tanaka, D. Walsh, S. Mann. Physical properties of type I collagen extracted from fish scales of *Pagrus major* and *Oreochromis niloticas*, *Int. J. Biol. Macromol.*, **2003**, *32*(3-5), 199-204.

23. S. Srinivasan, B. Durairaj. Collagen isolation and characterization from *Sardinella longiceps*, *J. Adv. Vet. Anim. Res.*, **2021**, *8*(4), 679-686.

24. D. Rui, Z. Junjie, D. Xiuqiao, Y. Xingcun, K. Kunihiko. Properties of collagen from skin, scale and bone of carp (*Cyprinus carpio*), *Food Chem.*, **2009**, *112* (3), 702-706.

25. T. L. Aikaterini, S. Stefanos, L. Karkatzoulis, K. Bethanis, V. Roussis, E. Ioannou. Valorization of fish waste: isolation and characterization of acid- and pepsin-soluble collagen from the scales of Mediterranean fish and fabrication of collagen-based nanofibrous scaffolds, *Mar Drugs*, **2022**, *20*(11), 664.

26. N. K. Vate, P. Strachowski, I. Undeland, M. Abdollahi. Structural and functional properties of collagen isolated from lumpfish and starfish using isoelectric precipitation vs salting out, *Food Chem. X*, **2023**, *18*, 100646.

27. L. Hui, Y. Yijie, L. Yibo, C. Liyuan, F. Lulu, L. Bo. Various bioactive peptides in collagen hydrolysate from *salmo salar* skin and the combined inhibitory effects on atherosclerosis *in vitro* and *in vivo*, *Food Res. Int.*, **2022**, *157*, 111281.

28. Z. Yanfang, L. Wenen, G. Bin, W. Yuhui, F. Zhiqiang, Y. Yucan, X. Xin, L. Yuling, C. Huizhi, Y. Meng, P. Xinsheng, Z. Yubin. Non-cross-linked collagen type I microfibers for improved hemostasis and wound healing, *J. Mater. Sci.*, **2022**, *57*, 13570-13585.

Liên hệ: **Thái Hoàng**
Viện Kỹ thuật nhiệt đới
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: hoangth@itt.vast.vn.

KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CÁC HỢP CHẤT PHÂN LẬP TỪ CÂY CHÈ VẰNG (*Jasminum subtriplinerve* Blume) THU TẠI QUẢNG TRỊ, VIỆT NAM

Chu Quang Truyền[1*], Đặng Ngọc Phượng[1], Trần Văn Thành[3], Lê Thị Thảo[4], Võ Văn Cảnh[5], Trịnh Đình Trung[6], Vũ Thành Lộc[1], Nguyễn Xuân Hà[1], Lê Thị Phương Quỳnh[1], Đỗ Hữu Nghị[1], Nguyễn Mạnh Cường[1], Cầm Thị Ính[1,2*]

[1]Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

[2]Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

[3]Trường Đại học Y học cổ truyền Việt Nam, 2 Trần Phú, Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

[4]Khoa Dược, Trường Đại học Kinh doanh và Công nghệ Hà Nội, 29A, ngõ 124, Vĩnh Tuy, Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

[5]Viện Huyết học Truyền máu Trung ương, 5, Phạm Văn Bạch, Yên Hòa, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

[6]Trung tâm Nghiên cứu và Chuyển giao công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

Trong một thời gian dài, Chè vằng *(Jasminum subtriplinerve)* đã được sử dụng như một loại thảo dược truyền thống trong các bài thuốc về thảo dược và pha trà để điều trị các bệnh về da, áp xe và đau bụng. Từ phần bộ phận trên mặt đất của cây Chè vằng (*Jasminum subtriplinerve*) thu tại La Vang, tỉnh Quảng Trị, Việt Nam, đã phân lập và xác định cấu trúc thành công ba hợp chất (**1**-**3**) từ cặn butanol, bao gồm anatolioside A (**1**), acteoside (**2**) và kaempferol 3-rutinoside (**3**). Cấu trúc của các hợp chất này được xác định thông qua phân tích phổ NMR. Cả ba hợp chất đều thể hiện hoạt tính sinh học chống oxy hóa bằng phương pháp bẫy gốc tự do DPPH và hoạt tính kháng khuẩn đối với tám vi sinh vật tham chiếu.

Từ khóa: *Jasminum subtriplinerve*, chiết xuất butanol, anatolioside A, acteoside, kaempferol 3-rutinoside, DPPH, chất chống oxy hóa, kháng khuẩn.

1. MỞ ĐẦU

Chi nhài *Jasminum* thuộc họ Oleaceae, bao gồm hơn 200 loài, phân bố rộng rãi ở các vùng châu Phi, châu Á, châu Úc, các đảo ở phía Nam Thái Bình Dương và châu Mỹ. Một số loài *Jasminum* đã được sử dụng trong y học dân gian, chiết xuất tinh dầu làm hương liệu trong các sản phẩm như nước hoa, kem dưỡng da, xà phòng, sáp thơm cũng như trong thực phẩm và tinh dầu.[1,2] Ở Việt Nam, chi *Jasminum* có hơn 30 loài, trong đó có 8 loài được sử dụng trong y học dân gian.[3] Chè vằng (*Jasminum subtriplinerve* Blume) là loại cây bụi nhỏ, phân bố rộng rãi trong tự nhiên và được trồng ở một số vùng ở Việt Nam. Loài này được sử dụng dưới dạng trà hoặc trong y học dân gian để điều trị bệnh chốc lở, chữa lành vết thương, nhọt mủ, kinh nguyệt không đều và đau bụng kinh ra máu.[3,4] Các nghiên cứu hoá học trước đây về loài *J. subtriplinerve* đã phát hiện các glycoside monoterpenoid, triterpenoid và sterol.[4-6] Bài báo này

báo cáo về việc phân lập và xác định cấu trúc của ba hợp chất **1-3** cùng với các hoạt tính sinh học của chúng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu thực vật

Các bộ phận trên mặt đất của cây *J. subtriplinerve* Blume được thu thập tại La Vang, tỉnh Quảng Trị, Việt Nam vào tháng 11 năm 2022 và được định danh bởi Tiến sĩ Nguyễn Thế Cường, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST). Mẫu chứng (CVLV) được lưu giữ tại Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Thiết bị nghiên cứu

Phổ NMR được ghi bằng máy quang phổ Bruker Avance II ở tần số 600 MHz (^{1}H-NMR) và 150 MHz (^{13}C-NMR) sử dụng TMS làm tham chiếu nội bộ. Phổ HR-ESI-MS thu được trên máy quang phổ khối Sciex X500R QTOF. Sắc ký cột được thực hiện trên silica gel 60 (0,063-0,2 mm), Sephadex LH-20 (25-100 μm) và silica gel RP-18 (40-63 μm). Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên silica gel 60F254 (0,25 mm, Merck, Darmstadt, Đức) và các tấm Rp-18. Các vết trên các bản mỏng được quan sát dưới ánh sáng UV (254 nm và 365 nm) và bằng cách phun dung dịch vanillin/axit sunfuric và sấy nóng trong 5 phút.

2.3. Phân lập các hợp chất

Các bộ phận trên mặt đất của *J. subtriplinerve* (khô, 1,5 kg) được nghiền và chiết ba lần bằng methanol-nước (95:5, v/v) ở nhiệt độ phòng. Dung dịch chiết được cô đặc dưới áp suất giảm trong máy cô quay tại áp suất giảm ở 60 ^{o}C và được hòa tan lại trong nước. Dung dịch được phân bố liên tiếp với *n*-hexan, etyl axetat và *n*-butanol. Các dung môi hữu cơ được loại bỏ để tạo ra các cao chiết tương ứng với khối lượng 28,9 g, 11,3 g và 92 g.

Cao chiết butanol (50 g) được đưa lên cột sắc ký silica gel, rửa giải bằng hệ gradient CH_2Cl_2–MeOH–H_2O (từ 5:1:0,1 đến 2:1:0,1, v/v) để tạo ra 7 phân đoạn (B1-B7). Phân đoạn B2 được sắc ký trên cột silica gel (CH_2Cl_2–MeOH–H_2O, 4,5:1:0,1 đến 3,5:1:0,1, v/v) và sau đó đưa tiếp lên cột silica gel pha đảo Rp-18 (MeOH–H2O = 1,5:1, v/v) để thu được hợp chất **1** (15 mg). Phân đoạn B3 được tách trên cột silica gel (CH_2Cl_2–MeOH–H_2O, 4:1:0,1) và sau đó tinh chế trên cột silica gel pha đảo Rp-18 (MeOH–H_2O = 1,5:1, v/v) để thu được hợp chất **2** (22 mg).

Phân đoạn B4 được tách trên cột silica gel pha đảo Rp-18 (MeOH–H_2O = 1:1, v/v) để thu được hợp chất **3** (8 mg).

Anatolioside A (**1**)**:** ^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD): 6,82 (1H, m, H-3‴), 6,04 (1H, dd, *J* = 17,4, 10,8 Hz, H-7‴), 5,95 (1H, *J* = 17,4, 10,8 Hz, H-7), 5,46 (1H, br s, H-1″), 4,47 (1H, d, *J* = 7,2 Hz, H-1′), 1,86 (3H, s, 2‴-Me), 1,60 (3H, s, H-2), 1,42 (3H, s, H-6), 1,28 (3H, s, H-1), 1,11 (3H, d, *J* = 6,0 Hz, H-6″). ^{13}C-NMR (125 MHz, CD_3OD): 169,4 (C-1‴), 145,9 (C-7‴), 144,7 (C-7), 144,2 (C-3‴), 132,4 (C-2), 128,7 (C-2‴), 125,4 (C-3), 116,0 (C-8), 112,5 (C-8‴), 101,1 (C-1″), 98,2 (C-1′), 81,8 (C-6), 80,0 (C-2′), 77,6 (C-5′), 76,9 (C-3′), 76,1 (C-4″), 73,5 (C-6‴), 72,2 (C-2″), 72,0 (4′), 70,5 (C-3″), 67,4 (C-5″), 62,8 (C-6′), 43,0 (C-5), 41,9 (C-5‴), 27,8 (C-1), 25,9 (C-6‴), 24,6 (C-4‴), 23,7 (C-4), 22,5 (6-Me), 17,9 (2-Me và C-6″), 12,6 (2‴- Me).

Acteoside (**2**)**:** Chất rắn màu ngà. ^{1}H- NMR (600 MHz, CD_3OD): 7,62 (1H, d, *J* = 15,6 Hz, H-7′), 7,08 (1H, d, *J* = 1,8 Hz, H-2′), 6,98 (1H, dd, *J* = 8,4, 1,8 Hz, H-6′), 6,80 (1H, d, *J* = 8,4 Hz, H-5′), 6,72 (1H, d, *J* = 1,8 Hz, H-2), 6,70 (1H, d, *J* = 7,8 Hz, H-5), 6,59 (1H, dd, *J* = 8,4, 1,8 Hz, H-6), 6,30 (1H, d, *J* = 15,6 Hz, H-8′), 5,21 (1H, d, *J* = 1,8 Hz, H-1‴), 4,94 (1H, t, *J* = 9,6 Hz, H-4″), 4,40 (1H, d, *J* = 7,8 Hz, H-1″), 4,09 (1H, m, H-8a), 3,77 (1H, m, H-

8b), 2,83 (2H, m, H-7), 1,12 (3H, d, *J* = 6,6 Hz, H-6‴). ^{13}C- NMR (125 MHz, CD_3OD): 168,3 (C-9′), 149,8 (C-4′), 148,0 (C-7′), 146,8 (C-3′), 146,1 (C-3), 144,6 (C-4), 131,5 (C-1), 127,7 (C-1′), 123,2 (C-6′), 121,3 (C-6), 117,1 (C-2), 116,5 (C-5′), 116,3 (C-5), 115,3 (C-2′), 114,7 (C-8′), 104,2 (C-1″), 103,0 (C-1‴), 81,6 (C-3″), 76,2 (C-5″), 76,0 (C-2″), 73,8 (C-4‴), 72,2 (C-8), 70,6 (C-4″), 62,4 (C-6″), 36,5 (C-7), 18,4 (C-6‴).

Kaempferol 3-rutinoside (**3**)**:** Bột màu vàng vô định hình. ^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD): 8,08 (2H, d, *J* = 9,0 Hz, H-2′ và H-6′), 6,90 (2H, d, *J* = 9,0 Hz, H-3′ và H-5′), 6,33 (1H, d, *J* = 1,8 Hz, H-8), 6,16 (1H, d, *J* = 1,8 Hz, H-6), 5,08 (1H, d, *J* = 47,2 Hz, H-1″), 4,54 (1H, d, *J* = 1,8 Hz, H-1‴), 3,83 (1H, dd, *J* = 11,4, 1,8 Hz, H-6″a), 3,66 (1H, dd, *J* = 3,0, 1,8 Hz, H-2‴), 3,55 (1H, dd, *J* = 9,0, 3,0 Hz, H-3‴), 1,16 (3H, d, *J* = 6,0 Hz, H-6‴). ^{13}C-NMR (125 MHz, CD_3OD): 179,1 (C-4), 168,8 (C-7), 162,8 (C-5), 161,5 (C-4′), 159,1 (C-2), 158,8 (C-9), 135,5 (C-3), 132,3 (C-2′ và C-6′), 122,8 (C-1′), 116,2 (C-3′ và C-5′), 104,8 (C-1″), 102,4 (C-1‴), 100,9 (C-6), 95,3 (C-8), 78,2 (C-3″), 77,2 (C-5″), 75,8 (C-2″), 73,9 (C-4‴), 72,3 (C-3‴), 72,1 (C-2‴), 71,5 (C-4″), 69,7 (C-5‴), 68,6 (C-6″), 17,9 (C-6‴).

2.4. Thử nghiệm hoạt tính chống oxi hóa bằng đánh giá khả năng bắt gốc DPPH

Hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* được đánh giá qua khả năng trung hòa gốc tự do tạo bởi 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH).[7-9] Chất thử được hòa trong dimethyl sulfoxide (DMSO 100%) để được dải nồng độ 256→12,5 µg/mL. Axit ascorbic 5 mM trong DMSO 10% được sử dụng là chất tham chiếu (+). Sau khi nhỏ DPPH vào dung dịch mẫu thử trên phiến vi lượng 96 giếng và ủ phản ứng ở 37 ^{o}C trong 15 phút, sự hấp thụ tại λ = 734 nm được xác định trên thiết bị đo quang Tecan Spark (Tecan, Thụy Sỹ). Kết quả các thử nghiệm được thể hiện là giá trị trung bình của ít nhất 3 phép thử lặp lại ± độ lệch chuẩn ($p \leq 0,05$). Giá trị trung bình của SC (%) ở các nồng độ mẫu được đưa vào chương trình xử lý số liệu Excel theo công thức:

$$SC\% = \left[100 - \frac{\text{OD (mẫu thử)} - \text{OD (mẫu trắng)}}{\text{OD (chứng âm tính)}} \times 100\right] \pm \sigma$$

Độ lệch tiêu chuẩn σ tính theo công thức của Ducan như sau:

$$\sigma = \sqrt{\frac{(\sum x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Hiệu quả quét gốc tự do tạo bởi DPPH của mỗi mẫu được tính dựa trên % trung hòa gốc tự do so với mẫu trắng (*blank*) và đối chứng âm. Mẫu có biểu hiện hoạt tính chống oxy hóa trên hệ DPPH được thực hiện các bước tiếp theo để tìm giá trị SC_{50} (µg/m). Giá trị SC_{50} được xác định bằng phần mềm TableCurve AISN Software (Jandel Scientific) qua giá trị SC% và dãy các nồng độ chất thử tương ứng.

2.5. Thử nghiệm hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định

Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định được tiến hành để đánh giá hoạt tính kháng sinh của các mẫu chiết được thực hiện trên phiến vi lượng 96 giếng (96-well microtiter plate) theo phương pháp hiện đại của Vander Bergher và Vlietlinck (1991),[10] và McKane & Kandel (1996).[11]

Các chủng vi sinh vật kiểm định được sử dụng bao gồm: Vi khuẩn Gr (-): *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145). Vi khuẩn Gr (+): *Bacillus subtillis* subsp. *spizizenii* (ATCC 6633), *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (ATCC 25923). Nấm sợi: *Aspergillus niger* (ATCC 6275), *Fusarium oxysporum* (ATCC 7601). Nấm men: *Candida albicans* (ATCC 10231), *Saccharomyces cerevisiae* (VTCC–Y–62). Các chứng dương tính được sử dụng gồm Streptomycin cho vi khuẩn Gr (+), Tetracyclin cho vi khuẩn Gr (-), Nystatin hoặc Amphotericin B cho nấm sợi và nấm men.

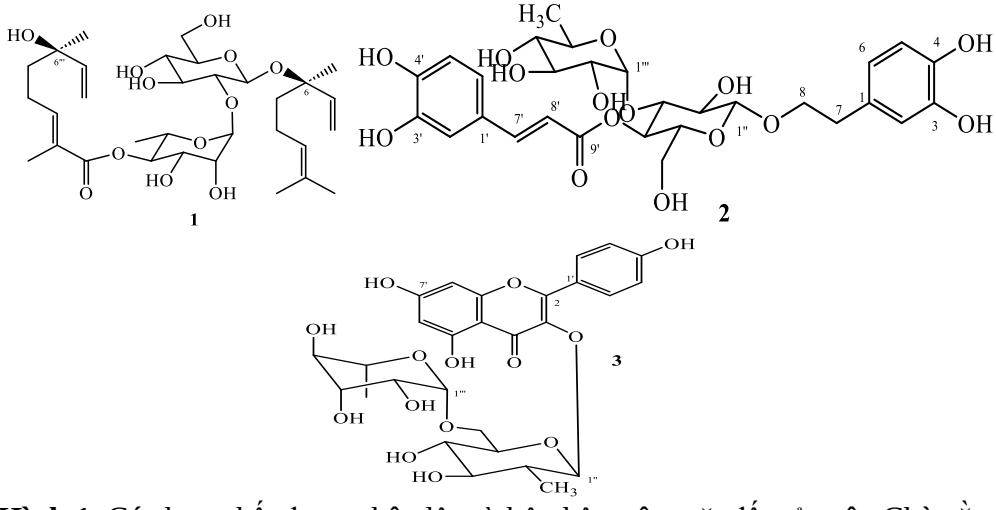
Các chủng kiểm định được hoạt hóa và pha loãng theo tiêu chuẩn McFarland 0,5 rồi tiến hành thí nghiệm. Các phiến thí nghiệm trong tủ ấm 37 ^{o}C/24 giờ cho vi khuẩn và 30 ^{o}C/48 giờ đối với nấm sợi và nấm men. Các mẫu được pha loãng theo các thang nồng độ thấp dần, để tính nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) là nồng độ mà ở đó vi sinh vật bị ức chế gần như hoàn toàn.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** được phân lập dưới dạng tinh thể trong suốt. Phổ NMR của hợp chất **1** cho thấy các tín hiệu tại δ_H 5,95 (1H, *J* = 17,4, 10,8 Hz, H-7)/δ_C 144,7 (C-7), δ_H 6,04 (1H, dd, *J* = 17,4, 10,8 Hz, H-7‴)/δ_C 145,9 (C-7‴), δ_H 6,82 (1H, m, H-3‴)/δ_C 144,2 (C-3‴), các tín hiệu của bốn nhóm methyl tại δ_H 1,60/δ_C 17,9 (C2-Me), δ_H 1,42/δ_C 22,5 (C6-Me), δ_H 1,86/δ_C 12,6 (C2‴-Me), δ_H 1,28/δ_C 27,8 (C1-Me), một carbonyl carbon tại δ_C 169,4 ppm (C-1‴) và bốn carbon không gắn proton tại δC 81,8 (C-6), 132,4 (C-2), 128,7 (C-2‴) và 73,5 (C-6‴), cho thấy sự có mặt của nhóm (2*E*)-6-hydroxy-2,6-dimethylocta-2,7-diene (đơn vị linalool A) và (2*E*)-6-hydroxy-2,6-dimethylocta-2,7-dienoic (đơn vị linalool B) trong hợp chất **1**. Phổ ^{1}H-NMR cho thấy sự xuất hiện của proton từ hai phân tử đường (glucoside và rhamnoside), được nhận diện thông qua tín hiệu đặc trưng của hai proton anomer tại δ_H 4,47 (d, *J* = 7,2 Hz, H-1′) và δ_H 5,46 (brs, H-1″); cùng với tín hiệu doublet của một nhóm methyl đặc trưng tại δ_H 1,11 (d, *J* = 6,0 Hz, H-6″) và có thêm 10 proton khác trong khoảng δ_H 3,15-5,02 ppm.

So sánh với tài liệu tham khảo[12] hợp chất **1** được xác nhận là hợp chất anatolioside A.

Hợp chất **2** được phân lập dưới dạng bột màu ngà. Phổ ^{1}H-NMR cho thấy đây là một hợp chất phenolic-glycoside, với các tín hiệu proton của phân tử đường (glucose và rhamnose) được nhận diện qua các tín hiệu đặc trưng của hai proton anomer tại δ_H 4,40 (1H, d, *J* = 7,8 Hz, H-1″) và δ_H 5,21 (1H, d, *J* = 1,8 Hz, H-1‴), cùng với tín hiệu doublet của một nhóm methyl đặc trưng tại δ_H 1,12 (1H, d, *J* = 6,6 Hz, H-6‴). Các proton của phần aglycon cho thấy sự có mặt của hai vòng thơm được thế tại các vị trí 1, 3, 4 (thông qua hằng số tương tác *J*), với sự xuất hiện của các proton tại δ_H 6,72 (1H, d, *J* = 1,8 Hz, H-2), δ_H 6,70 (1H, d, J = 7,8 Hz, H-5), δ_H 6,59 (1H, dd, *J* = 1,8, 8,4 Hz, H-6) và δ_H 7,08 (1H, d, *J* = 1,8 Hz, H-2′), 6,80 (1H, d, *J* = 8,4 Hz, H -5′), 6,98 (1H, dd, *J* = 1,8, 8,4 Hz, H-6′). Phổ ^{13}C-NMR hiển thị tín hiệu của 29 nguyên tử carbon. Dựa trên dữ liệu phổ DEPT, xác định được 8 carbon thuộc nhóm 3,4-dihydroxyphenylethyl và 9 carbon thuộc nhóm *trans*-caffeoyl, trong đó có một carbonyl ester xuất hiện tại δ_C 168.3 (C-9′). Bằng cách kết hợp dữ liệu phổ và so sánh với tài liệu tham khảo,[13] hợp chất **2** được xác định là β-(3,4-dihydroxyphenyl)ethyl-O-α-L-rhamnopyranosyl(1→3)-β-D-(4-O-caffeoyl)-glucopyranoside, với tên thường dùng là acteoside (Hình 1).



Hình 1. Các hợp chất được phân lập từ bộ phận trên mặt đất của cây Chè vằng (*Jasminum subtriplinerve*)

Hợp chất (**3**) được xác định là kaempferol 3-rutinoside bằng cách phân tích dữ liệu phổ NMR và so sánh với tài liệu tham khảo.[14]

Ba hợp chất trên được đánh giá hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng bẫy gốc tự do DPPH và giá trị SC_{50} (µg/mL) được tính toán bằng phần mềm TableCurve AISN (Jandel Scientific, USA). Kết quả cho thấy cả ba hợp chất chất đều thể hiện hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* trung bình với giá trị SC_{50} lần lượt là 56,08 µg/mL, 78,45 µg/mL và 228,13 µg/mL (Bảng 1).

Bảng 1. Kết quả thử hoạt tính chống oxy hóa DPPH của các hợp chất phân lập từ cây Chè vằng (*Jasminum subtriplinerve*)

STT	Mẫu thử	Nồng độ mẫu cao nhất (µg/mL)	Scaveging capacity (SC, %)	SC_{50} (µg/mL)
1	Chứng (+)	44	80,87	20,7
2	Chứng (-)	-	0,0	-
3	**1**	256	78,38±0,23	56,08
4	**2**	256	52,37±0,32	78,45
5	**3**	256	57,53±0,11	228,13

Đối với thử nghiệm kháng vi sinh vật kiểm định, trên tám loại vi khuẩn và nấm mốc, tất cả các hợp chất đều thể hiện hoạt tính ức chế sinh trưởng đối với nấm mốc *A. niger* với giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) là 200 µg/mL (Bảng 2).

Bảng 2. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) trên các dòng vi sinh vật kiểm định của các hợp chất phân lập từ cây Chè vằng (*Jasminum subtriplinerve*)

Kí hiệu mẫu	Nồng độ (µg/mL)	Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC: µg/mL)							
		Vi khuẩn Gr (-)		Vi khuẩn Gr (-)		Nấm mốc		Nấm men	
		E. coli	*P. aeruginosa*	*B. subtillis*	*S. arueus*	*A. niger*	*F. oxysporum*	*C. albicans*	*S. cerevisiae*
1	200	(-)	(-)	(-)	(-)	200	(-)	(-)	(-)
2	200	(-)	(-)	(-)	(-)	200	(-)	(-)	(-)
3	200	(-)	(-)	(-)	(-)	200	(-)	(-)	(-)

4. KẾT LUẬN

Từ phần trên mặt đất của cây Chè vằng (*Jasminum subtriplinerve* Blume) thu tại La Vang, tỉnh Quảng Trị, Việt Nam, ba hợp chất đã biết, anatolioside A (**1**), acteoside (**2**) và kaempferol 3-rutinoside (**3**) đã được phân lập và xác định cấu trúc. Cả ba hợp chất đều thể hiện hoạt tính chống oxy hóa với giá trị SC_{50} lần lượt là 56,08 µg/mL, 78,45 µg/mL và 228,13 µg/mL bằng phương pháp bẫy gốc tự do DPPH. Ngoài ra, cả ba hợp chất đều thể hiện khả năng ức chế loài nấm *A. niger* với giá trị MIC 200 µg/mL.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được hỗ trợ tài chính bởi Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (mã số: UDSPTM.02/23-24).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. P. Garg, V. Garg. Bibliometric analysis of the genus Jasminum: global status, research and trends, *Journal of Herbal Medicine,* **2023**, *41*, 100711.

2. K. Q. Ning, D. L. Meng, L. L. Lou, X. Li. Chemical constituents from the *Jasminum lanceolarium* Roxb. *Biochemical Systematics Ecology*, **2013**, *51*, 297-300.
3. P. H. Hộ. Cây cỏ Việt Nam, Nhà xuất bản Trẻ, Hà Nội, **1999**.
4. D. Hue Ngan, H. T. C. Hoai, L. Mai Huong, P. E. Hansen, O. Vang. Bioactivities and chemical constituents of a Vietnamese medicinal plant che vang, *Jasminum subtriplinerve* Blume (Oleaceae), *Natural Product Research*, **2008**, *22*, 942-949.
5. W. Kraus, H. N. Luu, J. Conrad, I. Klaiber, S. Reeb, B. Vogler. Investigation of biologically active natural products using online LC-bioassay, LC-NMR, and LC-MS techniques, *Phytochemistry Reviews*, **2002**, *1*, 409-411.
6. N. C. Bao. Chemical constituents of che vang (*Jasminum subtriplinerve* Blume) from Quang Tri province, *Hue University Journal of Science: Natural Science*, **2016**, *116*.
7. W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, C. Berset. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT-Food Science Technology*, **1995**, *28*, 25-30.
8. S. Gorinstein, R. Haruenkit, Y. S. Park, S. T. Jung, Z. Zachwieja, Z. Jastrzebski, E. Katrich, S. Trakhtenberg, O. M. Belloso. Bioactive compounds and antioxidant potential in fresh and dried Jaffa® sweeties, a new kind of citrus fruit, *Journal of the Science of Food Agriculture*, **2004**, *84*, 1459-1463.
9. G. P. Kumar, K. Navya, E. Ramya, M. Venkataramana, T. Anand, K. Anilakumar. DNA damage protecting and free radical scavenging properties of *Terminalia arjuna* bark in PC-12 cells and plasmid DNA, *Free Radicals Antioxidants*, **2013**, *3*, 35-39.
10. V. Berghe, A. Vlietinck. Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants, *Methods in plant biochemistry*, **1991**, *6*, 47-68.
11. L. McKane, J. Kandel. Bacterial growth and laboratory cultivation, *Microbiology Essentials Applications New York: McGraw-Hill, Inc*, **1996**, *97*, 125.
12. I. Çaliş, A. Yürüker, H. Rüegger, A. D. Wright, O. Sticher. Anatoliosides: Five Novel Acyclic Monoterpene Glylcosides from *Viburnum orientale*, *Helvetica Chimica Acta*, **1993**, *76*, 416-424.
13. H. Nishimura, H. Sasaki, N. Inagaki, C. Masao, Z. Chen, H. Mitsuhashi. Nine phenethyl alcohol glycosides from *Stachys sieboldii*, *Phytochemistry*, **1991**, *30*, 965-969.
14. P. T. T. Huong, N. Van Thanh, C. N. Diep, N. P. Thao, N. X. Cuong, N. H. Nam, C. Van Minh. Antimicrobial compounds from *Rhizophora stylosa*, *Vietnam Journal of Science*, **2015**, *53*, 205-210.

Liên hệ: **Chu Quang Truyền**
Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: quangtruyen69@gmail.com.

Cầm Thị Ính
Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: camthiinh@gmail.com.

HÀM LƯỢNG LIPID TỔNG VÀ THÀNH PHẦN AXIT BÉO CỦA HẠT SÂM NGỌC LINH *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. (1985)

Đặng Thị Phương Ly[1*], Trịnh Thị Thu Hương[1], Đào Thị Kim Dung, Nguyễn Thị Nga, Vasilii Svetashev I.[2], Phạm Quốc Long[1]

[1]Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

[2]Trung tâm Nghiên cứu quốc gia về Sinh vật biển Zhirmunsky, Phân viện Viễn Đông, Liên bang Nga

Ngày nhận bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

Sâm Ngọc Linh là một loài sâm đặc hữu của Việt Nam đã được thế giới biết đến với tên khoa học là *Panax vietnamesis* Ha et Grushv. (1985). Sâm Ngọc Linh là một trong những loài sâm có hàm lượng saponin khung dammaran cao nhất (khoảng 12-15%) và lượng saponin triterpen nhiều nhất so với các loài khác của chi *Panax* trên thế giới. Ngoài ra, trong sâm Ngọc Linh còn có 17 axit amin (trong đó có 8 axit amin không thay thế được), 20 nguyên tố đa lượng, vi lượng, có mặt 14 axit béo, hàm lượng lipid là 0,52%. Trong nghiên cứu này, đã phân tích hàm lượng lipid tổng và thành phần/hàm lượng các axit béo có mặt trong hạt sâm Ngọc Linh *Panax vietnamensis*. Kết quả hàm lượng lipid tổng thu nhận được là 11,87±0,77 tính trên trọng lượng mẫu tươi. Thành phần axit béo xác định được 12 axit béo trong đó axit béo petroselinic 18:1 (n-12) là axit béo chiếm hàm lượng cao nhất. Kết quả của nghiên cứu này sẽ góp phần bổ sung thêm những số liệu mới chưa được đề cập tới về thành phần hóa học của loài sâm Ngọc Linh *Panax vietnamensis*.

Từ khóa: Lipid, axit béo, sâm Ngọc Linh.

1. MỞ ĐẦU

Sâm Ngọc Linh là một loài sâm đặc hữu của nước ta đã được thế giới biết đến với tên khoa học là *Panax vietnamesis* Ha et Grushv. (1985)[1] là một loài cây thuộc Họ Cuồng cuồng (Araliaceae), còn gọi là sâm Việt Nam, sâm Khu Năm (sâm K5), sâm trúc (sâm đốt trúc, trúc tiết nhân sâm), củ ngải rọm con hay cây thuốc giấu, được tìm thấy tại miền Trung Trung Bộ, Việt Nam, mọc tập trung ở các huyện miền núi Ngọc Linh thuộc huyện Đắk Tô và huyện Tu Mơ Rông tỉnh Kon Tum, huyện Nam Trà My, tỉnh Quảng Nam. Ngoài ra, sâm còn phân bố tại núi Ngọc Lum Heo thuộc xã Phước Lộc, huyện Phước Sơn và còn có thể có ở đỉnh Ngọc Am, tỉnh Quảng Nam. Sâm Ngọc Linh thường sinh trưởng ở độ cao 1.200-2.100 m dọc theo các suối ẩm trên đất nhiều mùn. Sâm Ngọc Linh được phát hiện lần đầu tiên năm 1973 do đoàn điều tra dược liệu Ban dân y khu 5 do DS. Đào Kim Long hướng dẫn và đây được coi là một trong những phát hiện quan trọng bậc nhất trong lĩnh vực y dược. Sâm Ngọc Linh cũng là loại nhân sâm thứ 20 được tìm thấy trên thế giới. Từ thời điểm đó, những nghiên cứu đầu tiên về sâm Ngọc Linh đã được thực hiện.[2]

Cho tới nay, trải qua gần 50 năm đã có rất nhiều công trình nghiên cứu của các cơ quan, các nhà khoa học trong và ngoài nước nghiên cứu về thành phần hóa học trong các bộ phận khác nhau của sâm Ngọc Linh được thực hiện. Theo kết quả nghiên cứu từ năm 1978 của Bộ Y tế Việt Nam, phần thân rễ của cây sâm Ngọc Linh Việt Nam chứa 26 hợp chất saponin có cấu trúc hóa học đã biết và 24 saponin có cấu trúc mới không có trong các loại sâm khác. Những kết quả nghiên cứu, phân lập thành phần hóa học mới nhất được công bố còn kéo dài danh sách saponin của sâm Ngọc Linh hơn nữa, lên tổng cộng 52 loại. Sâm Ngọc Linh là một

trong những loài sâm có hàm lượng saponin khung dammaran cao nhất (khoảng 12-15%) và lượng saponin triterpen nhiều nhất so với các loài khác của chi *Panax* trên thế giới. Hợp chất hóa học đa dạng và tác dụng thực tiễn đối với sức khỏe của con người khiến sâm Ngọc Linh hiện nay được bán trên thị trường với giá càng ngày càng cao, thậm chí còn cao hơn sâm Triều Tiên nhiều lần. Ngoài ra, trong sâm Ngọc Linh còn có 17 axit amin (trong đó có 8 axit amin không thay thế được), 20 nguyên tố đa lượng, vi lượng. Các nghiên cứu về lipid của sâm Ngọc linh cũng được thực hiện, xác định được sự có mặt của 14 axit béo, hàm lượng lipid là 0,52%.[3-7]

Các bộ phận khác nhau của sâm Ngọc Linh đã được rất nhiều nhà khoa học tập trung nghiên cứu thành phần hóa học khá kỹ càng, nhưng các nghiên cứu về lipid thì chưa có nhiều, và nghiên cứu về lipid của hạt sâm Ngọc Linh Việt Nam thì hoàn toàn chưa được thực hiện. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sẽ thực hiện phân tích hàm lượng lipid tổng và thành phần axit béo của hạt sâm Ngọc Linh *Panax vietnamesis* Ha et Grushv. (1985), giúp bổ sung và hoàn thiện thêm các số liệu về hóa học của loài thực vật quý này.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Nguyên liệu

Mẫu hạt sâm Ngọc Linh *Panax vietnamensis* được thu thập vào tháng 10/2019 tại Tu Mơ Rông (Kon Tum), được cung cấp bởi Công ty cổ phần sâm Ngọc Linh - Kon Tum.

Địa điểm thu mẫu hạt sâm Ngọc Linh: https://vnexpress.net/vuon-uom-sam-giong-tri-gia-hang-tram-ty-tren-nui-ngoc-linh-3803885.html.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phương pháp chiết lipid tổng

Mẫu hạt tươi sau khi thu được tiến hành chiết lipid tổng theo phương pháp Folch J. F, sử dụng hệ dung môi $CHCl_3$:MeOH tỷ lệ 2:1 theo thể tích.[8] Dung môi được loại bỏ bằng thiết bị quay cất chân không ở 40 ºC. Dịch chiết lipid tổng được bảo quản ở -20 ºC với argon.

2.2.2. Phương pháp tạo dẫn xuất axit béo

Từ dịch chiết lipid tổng (~10 g), metyl este (FAME) được điều chế với phương pháp metyl hóa hai bước (Bước 1: 1% $NaOCH_3$/MeOH; bước 2: HCl/MeOH 5%; cả hai bước được thực hiện ở 60 °C trong 20 phút.[9] FAME được chiết bằng hexan và tinh chế bằng sắc ký lớp mỏng (TLC) trên các tấm silica gel trong hệ hexan-dietyl ete 9:1 (v/v).

Dẫn xuất isopropyl ester của axit béo (FAIPE) được điều chế bằng cách ủ 3-5 mg lipid tổng với isopropanol (1,8 mL) và axit sulfuric (0,25 mL) ở 100 °C trong vòng 1 giờ.[10] Sau phân lớp bằng hexan, giống như metyl este, FAIPE đã được tinh chế bằng sắc ký lớp mỏng TLC.

Từ FAME thu được, tiến hành điều chế dẫn xuất 4,4-dimethyloxazoline (DMOX) của các axit béo.[11] FAME (2-5 mg) được ủ với 60 µL 50% 2-amino-2-metylpropanol trong benzen và 10 µL 1% $NaOCH_3$/MeOH ở nhiệt độ phòng qua đêm. Các acyl-2-methylpropanol amide thu được bằng cách phân lớp bởi hexan-dietyl ete 9:1 (v/v) và nước. Sau khi loại bỏ dung môi, các acyl-2-methylpropanol amide được chuyển thành dẫn xuất DMOX bằng cách ủ với 150 µL trifluoroacetic anhydride ở 50 °C trong 45 phút, thổi khô bằng argon, hòa tan trong hexan và rửa lại bằng nước để loại bỏ các chất cặn tạo ra trong quá trình phản ứng.

2.2.3. Phương pháp phân tích axit béo

Dẫn xuất FAME và FAIPE được phân tích trên máy sắc ký khí (GC) Shimadzu GC 2010 với đầu dò ion hóa ngọn lửa; cột SUPELCOWAX 10 (Supelco, Mỹ) và DB-225 ms

(J&W Scientific, Mỹ); kích thước 30 m × 0,25 mm ID, màng 0,25 µm, nhiệt độ phân tích 200 và 205 °C. Các chất chuẩn metyl este của axit palmitic, stearic, oleic, petroselinic, linoleic và linolenic (Sigma, Mỹ) và dữ liệu phổ MS. Các dẫn xuất DMOX được phân tích trên máy sắc ký khí khối phổ (GC-MS) Shimadzu GCMS-QP5050A (Nhật Bản) được cột DB-225 MS, nhiệt độ từ 190-230 °C, 1 °C/phút; khí mang Heli vận tốc tuyến tính 30 cm/s. Phổ được so sánh với thư viện NIST và kho lưu trữ phổ khối FA.[12]

Tất cả các phân tích GC của axit béo được thực hiện lặp lại ba lần và kết quả được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (STD).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hàm lượng lipid tổng

Kết quả tính toán thu được về hàm lượng lipid tổng của mẫu hạt sâm Ngọc Linh được trình bày trong Bảng 1. Theo đó, hạt sâm *Panax vietnamensis* có hàm lượng lipid tổng là 11,87±0,77 tính trên trọng lượng mẫu tươi. Theo các tài liệu được công bố trước đó của Kim HJ và cộng sự,[13] hàm lượng lipid tổng trong các mẫu hạt nhân sâm châu Á *Panax ginseng* CA Meyer và nhân sâm Hoa Kỳ *Panax quinquifolium* L. được trồng 4 năm tại Hàn Quốc dao động trong khoảng từ 19,06-24,06%. Hàm lượng lipid tổng trung bình của hạt từ 3 cây Nhân sâm *Panax ginseng* hoang dã thu thập trong rừng già tại vùng Viễn Đông Liên bang Nga là 10,42% tính trên trọng lượng mẫu tươi.[12]

Bảng 1. Kết quả về hàm lượng lipid tổng (% trọng lượng khô) của mẫu hạt sâm Ngọc Linh *Panax vietnamensis*

Lượt chiết	1	2	3	TB	STD
HL LPT (%)	12,94	11,52	11,16	11,87	0,77

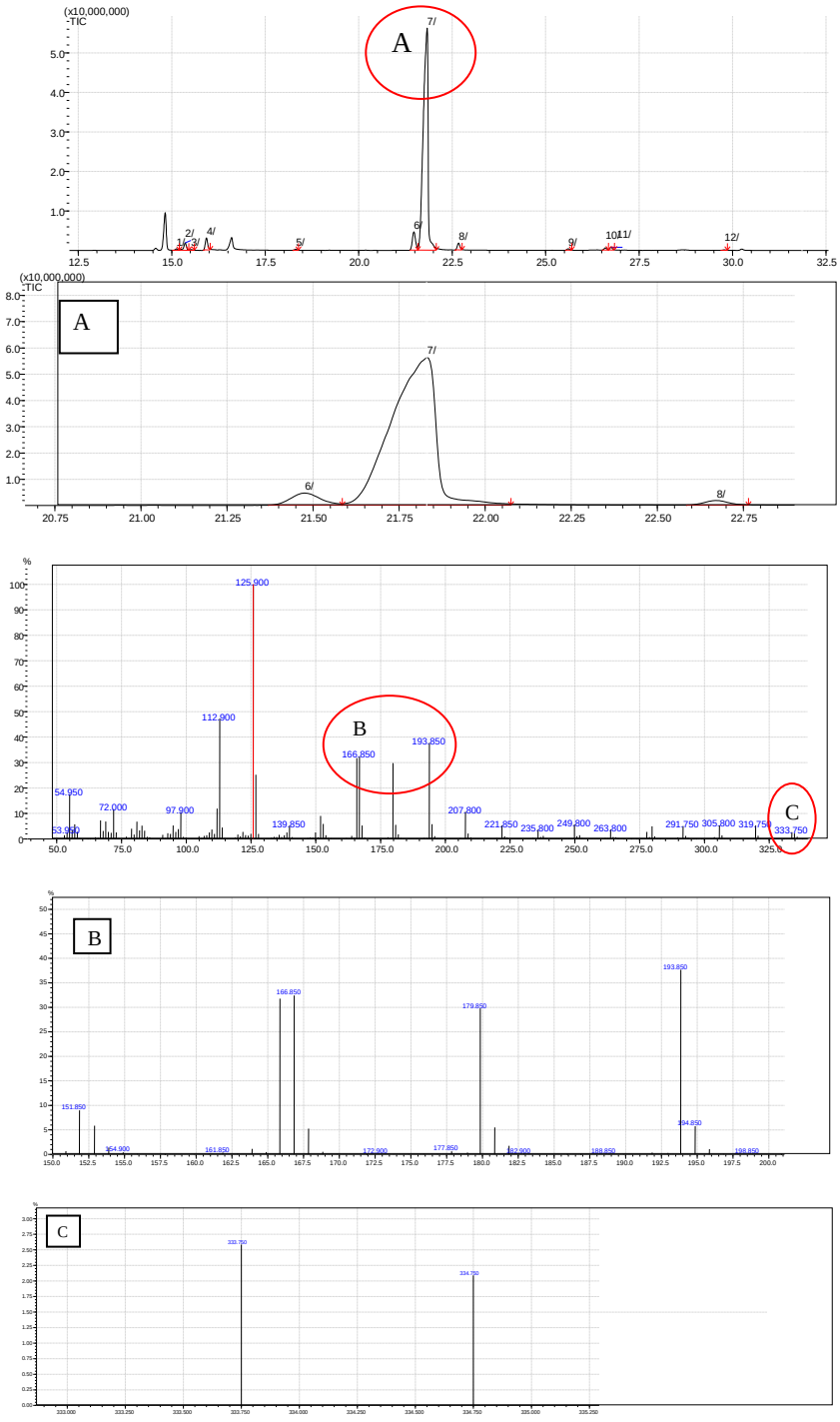
3.2. Thành phần và hàm lượng các axit béo

Thực hiện phân tích thành phần axit béo của mẫu nghiên cứu với dẫn xuất DMOX, trên phổ GCMS quan sát thấy một pic lớn với hàm lượng > 80%, đỉnh pic hơi lệch về mặt hình dạng (Hình 1A). Khối lượng ion phân tử là 334,750 tương ứng với khối lượng của ion phân tử dẫn xuất DMOX của axit béo 18:1n (Hình 1C). Trong phổ GCMS có mặt các tín hiệu 112,900 và 125,900 là các tín hiệu điển hình của dẫn xuất DMOX có liên kết đôi ở vị trí Δ6 đến 8. Thêm vào đó, ion lẻ ở m/z = 166,850 (hoặc bộ ba ở 167, 180 và 194) (Hình 1B, Hình 2) là một tín hiệu đặc trưng về vị trí của liên kết đôi ở vị trí Δ6.[20] Như vậy, có thể khẳng định sự có mặt của axit béo 18:1n-12 (hay 18:1nΔ6) tại pic có tín hiệu ion phân tử 334,750. Điều này cũng đồng nhất với kết quả của một số công bố trước đó đã đề cập tới rằng hạt của một số thành viên của họ Araliaceae chứa hàm lượng cao axit petroselinic 18:1n-12.[14,15]

Tuy nhiên, với hình dạng pic không cân xứng, có thể có mặt một thành phần axit béo khác cũng ở vị trí này. Điều này được làm rõ bằng việc sử dụng dẫn xuất isopropyl ester. Trên phổ GCMS của dẫn xuất isopropyl ester quan sát thấy bên cạnh pic tương ứng với axit béo 18:1n-12 xuất hiện thêm tín hiệu của 18:1n-9 với hàm lượng nhỏ (Hình 3).

Kết quả thành phần axit béo hạt sâm Ngọc Linh *Panax vietnamensis* được trình bày trong Bảng 2.

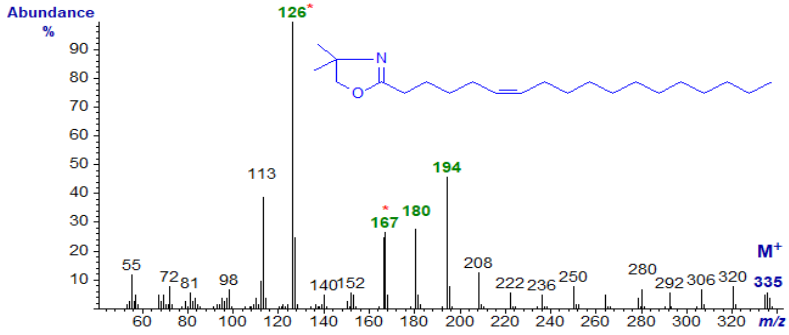
Có 12 axit béo được xác định, trong đó chiếm cao nhất là hàm lượng axit béo petroselinic 18:1n-12 với giá trị TB sau 3 lần chiết và phân tích là 85,65%. Cao thứ 2 là axit béo 18:2(n-6) (6,17%). Tổng hàm lượng axit béo 1 nối đôi chiếm ưu thế vượt trội với 87,84%, PUFA và axit béo no không nhiều chênh lệch (6,28% và 5,88%).



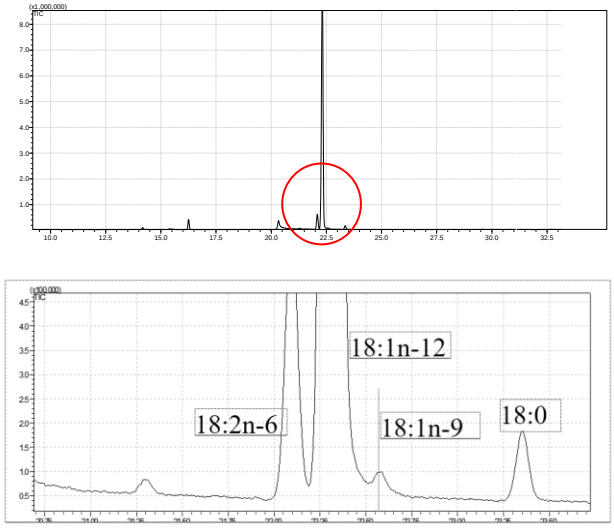
Hình 1. Phổ GCMS dẫn xuất DMOX của hỗn hợp axit béo của mẫu được nghiên cứu

Trên thế giới, đã có 1 số công bố về lipid hạt các loài sâm, trong đó đề cập tới trong thành phần axit béo, có kết luận rằng axit chiếm hàm lượng cao nhất là axit oleic 18:1n-9 (> 80%).[16-19] Tuy nhiên, vào năm 2016, nhóm tác giả Vasily I. Svetashev và cộng sự đã thực hiện nghiên cứu thành phần axit béo của hạt loài sâm *Panax ginseng* Meyer thu thập trong điều kiện tự nhiên trong rừng taiga của vùng Viễn Đông Nga và trong điều kiện nuôi trồng. Cấu trúc của các FA được phân tích bằng cách sử dụng GC-MS của metyl este của axit béo (FAME), isopropyl ester và các dẫn xuất 4,4-dimetyloxazoline (DMOX). Kết quả thu được trong tất cả các mẫu hạt được nghiên cứu, nhóm nhà khoa học đã khẳng định FA chính là axit petroselinic 18:1(n-12) chiếm hơn 60% chứ không phải axit oleic như nhiều công bố trước đó;

hàm lượng axit oleic và axit linoleic thấp hơn rất nhiều (lần lượt là 15-17%).[12] Như vậy, kết quả này tương đồng với nghiên cứu của nhóm tác giả Vasily I. Svetashev và cộng sự trên mẫu nhân sâm châu Á *Panax ginseng*, với hàm lượng axit béo chính là 18:1n-12 chiếm hơn 60%, chứ không phải axit béo 18:1n-9.



Hình 2. Phổ khối lượng của dẫn xuất 4,4-dimethyloxazoline của axit petroselinic trong thư viện phổ khối, tín hiệu ở *m/z* 167 cho biết vị trí của một liên kết đôi ở vị trí số 6 cacbon nguyên tử[20]



Hình 3. Phổ GCMS dẫn xuất isopropyl ester của hỗn hợp axit béo của mẫu được nghiên cứu

Bảng 2. Thành phần và hàm lượng các axit béo trong lipid tổng của mẫu hạt sâm Ngọc Linh *Panax vietnamensis*

TT	Lượt chiết / Axit béo	1	2	3	TB	STD
1	16:0	3,84	4,17	3,78	3,93	0,21
2	16:1(n-10)	0,31	0,31	0,35	0,32	0,02
3	16:1(n-13)	0,15	0,16	0,14	0,15	0,01
4	18:0	1,80	1,62	1,70	1,71	0,09
5	18:1(n-12)	85,26	85,04	86,65	85,65	0,87
6	18:1(n-9)	1,27	1,27	0,84	1,13	0,25

TT	Lượt chiết / Axit béo	1	2	3	TB	STD
7	18:1(n-7)	0,33	0,34	0,29	0,32	0,03
8	18:2(n-9)	0,10	0,11	0,13	0,11	0,01
9	18:2(n-6)	6,30	6,51	5,69	6,17	0,43
10	20:0	0,32	0,21	0,21	0,25	0,06
11	20:1(n-9)	0,17	0,14	0,11	0,14	0,03
12	20:1(n-7)	0,14	0,13	0,11	0,13	0,01
	Axb no	5,97	6,00	5,69	5,88	
	Monoenoic	87,63	87,38	88,50	87,84	
	PUFA	6,40	6,62	5,81	6,28	

4. KẾT LUẬN

Đã phân tích hàm lượng lipid tổng và thành phần/hàm lượng các axit béo có mặt trong hạt sâm Ngọc Linh *Panax vietnamensis*. Kết quả hàm lượng lipid tổng thu nhận được là 11,87 ± 0,77 tính trên trọng lượng mẫu tươi. Thành phần axit béo xác định được 12 axit béo trong đó axit béo petroselinic 18:1(n-12) là axit béo chiếm hàm lượng cao nhất. Kết quả của nghiên cứu này sẽ góp phần bổ sung thêm những số liệu mới chưa được đề cập tới về thành phần hóa học của loài sâm Ngọc Linh *Panax vietnamensis.*

Lời cám ơn: Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Công ty cổ phần sâm Ngọc Linh - Kon Tum đã cung cấp mẫu hạt sâm Ngọc Linh *Panax vietnamensis* để chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dung H. T., Grushvitzky I. V. A new species of the genus *Panax* L., Araliaceae in Vietnam: *Panax vietnamensis* Ha et Grushv., *Bot. Jour. Vietnam*, **1985**, *70*, 518-522.
2. Nguyễn Thới Nhâm, Nguyễn Văn Bàn. Sơ bộ phân tích trên sắc ký lớp mỏng so sánh sâm Việt Nam với hồng sâm Triều Tiên và sâm tam thất, Viện Dược liệu, **1973**.
3. Phạm Hải, Vũ Văn Chuyên. Về một loài *Panax* mọc ở Việt Nam, *Tập san Dược học*, **1979**, *4*, 9-11.
4. Nguyễn Thới Nhâm và cộng sự. Tóm tắt kết quả nghiên cứu từ năm 1978-1992, Trung tâm Sâm Việt Nam - Bộ Y tế, **1993**.
5. Nham N. T., De P. V., Luan T. C., Duc N. M., Shibata S., Tanaka O., Kasai R. Pharmacognostical and Chemical Studies on Vietnamese Ginseng, *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. (Araliaceae), *J. Jpn. Bot.*, **1995**, *70*, 1-10.
6. Trần Lê Quân. Luận án tiến sĩ Biologically active saponin constituents from Vietnamese ginseng plants, Trường Đại học Y Dược Toyama, **2002**.
7. Vũ Thị Hiền. Luận án tiến sĩ Nghiên cứu quá trình tái sinh và nhân giống *in vitro* cây sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.) bằng kỹ thuật nuôi cấy lớp mỏng tế bào, Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, **2018**.

8. Folch J., Lees M., Sloane Stanley G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues, *J. Biol. Chem*., **1957**, *226*, 497-509.

9. Carreau J. P., Dubacq J. P. Adaptation of macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extracts, *J. Chromatogr*., **1978**, *151*, 384-390.

10. Wolff R. L., Vandamme F. Separation of petroselinic (*cis*-6 18:1) and oleic (*cis*-9 18:1) acids by gas-liquid chromatography of their isopropyl esters, *J. Am. Oil Chem. Soc*., **1992**, *69*, 1228-1231.

11. Svetashev V. I., Mild method for preparation of 4,4-dimethyloxazoline derivatives of polyunsaturated fatty acids for GC-MS, *Lipids*, **2011**, *46*, 463-467.

12. Vasily I. Svetashev, Olga L. Burundukova, Tamara I. Muzarok, Yuri N. Zhuravlev, 2016. Fatty acid composition of seeds from wild and cultivated ginseng (*Panax ginseng* Meyer): Occurrence of a high level of petroselinic acid, *J. Am. Oil Chem. Soc*., **2016**, *93*, 1319-1323.

13. Kim H. J., Yoo K. M., Lee S., Kim K. T., Hwang I. K. Physicochemical characteristics of various ginseng seeds, *Korean J. Food Sci.Technol*., **2013**, *45*, 274-278.

14. Kleiman R., Spencer GF. Search for new industrial oils: XVI. Umbelliflorae-seed oils rich in petroselinic acid, *J. Am. Oil Chem. Soc*., **1982**, *59*, 29-38.

15. Stuhlfauth T., Fock H., Huber H., Klug K. The distribution of fatty acids including petroselinic and tariric acids in the fruit and seed oils of the Pittosporaceae, *Biochemical Systematics and Ecology*, **1985**, *13*(4), 447-453.

16. Lee M. H., Kim S. S., Cho C. W., Choi S. Y., In G., Kim K. T. Quality and characteristics of ginseng seed oil treated using different extraction methods, *J. Ginseng Res*., **2013**, *37*, 468-474.

17. Kim H. J., Yoo K. M., Lee S., Kim K. T., Hwang I. K. Physicochemical characteristics of various ginseng seed, *Korean J. Food Sci. Technol*., **2013**, *45*, 274-278.

18. Zhu X. M., Hu J. N., Shin J. A., Lee J. H., Hong S. T., Lee K. T. Comparison of seed oil characteristics from Korean ginseng, Chinese ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) and American ginseng (*Panax quinquefolium* L.), *J. Food Sci. Nutr*., **2010**, *15*, 275-281.

19. Matsumoto T., Akihisa T., Soma SI et al. Composition of unsaponifiable lipid from seed oils of *Panax ginseng* and *P. quiquefolium*, *J. Am. Oil Chem. Soc*., **1986**, *63*, 544-546.

20. https://www.lipidmaps.org/resources/lipidweb/lipidweb_html/ms/dmox/dmox-1db/index.htm. Truy cập ngày 06/01/2025.

Liên hệ: **Đặng Thị Phương Ly**
Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: phuongly1412@gmail.com.

NGHIÊN CỨU TẠO CHẾ PHẨM SIRO VÀ BỘT TỪ CỦ KHOAI SÂM (*Smallanthus sonchifolius*)

Trần Thị Tuyến[1], Phạm Cao Bách[1], Nguyễn Thị Hồng Vân[1,2*]

[1]Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

[2]Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

Bài báo nghiên cứu các điều kiện thích hợp, các bước tiến hành trong quy trình sản xuất siro Khoai sâm và bột Khoai sâm, cũng như sử dụng chất bổ trợ chống oxi hóa acid ascorbic với tỷ lệ 0,15 g acid ascorbic/kg nguyên liệu. Các sản phẩm từ Khoai sâm có lợi cho sức khỏe, đặc biệt đối với người bị đái tháo đường. Kết quả này là cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo khi tiến hành sản xuất với quy mô lớn, nhằm đa dạng hóa các sản phẩm từ cây Khoai sâm và nâng cao giá trị khoa học cũng như giá trị kinh tế của dược liệu này.

Từ khóa: Khoai sâm, Hoàng sin cô, *Smallanthus sonchifolius*, siro.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, đái tháo đường là bệnh nội tiết phổ biến ở Việt Nam cũng như trên thế giới. Các biến chứng của bệnh đái tháo đường là một trong những nguyên nhân gây ra nhiều bệnh hiểm nghèo như: bệnh động mạch vành, tai biến mạch máu não, tổn thương dây thần kinh, tổn thương mắt và suy giảm nhận thức.[1-3] Trong số các biến chứng của bệnh đái tháo đường, bệnh tim mạch là nguyên nhân phổ biến và gây tử vong cao nhất. Cho đến nay, có nhiều thuốc được kê đơn chữa bệnh đái tháo đường, tuy nhiên gây ra nhiều tác dụng phụ không mong muốn. Do đó, việc điều chỉnh lối sống và sử dụng thảo dược có nguồn gốc từ thiên nhiên chứa các chất có hoạt tính chống đái tháo đường là một trong những biện pháp đóng vai trò quan trọng để cải thiện bệnh đái tháo đường.

Cây Khoai sâm (hay còn gọi là cây Sâm đất, Sâm Fanxipan, Sâm khoai, Thượng đẳng sâm, Hoàng sin cô, Hancinco, Địa tạng thiên, Yacon, Sâm Nam Mỹ), có tên khoa học là *Smallanthus sonchifolius*, thuộc họ Cúc (Asteraceae), được H. Rob. mô tả khoa học đầu tiên vào năm 1978, có nguồn gốc từ cao nguyên Andean của Nam Mỹ, đã được du nhập vào Trung Quốc từ những năm 1990, ngày nay được đưa vào sử dụng ở các nước Nhật Bản, Hàn Quốc, Trung Quốc và Đông Nam Á.[4] Ở Việt Nam, cây Khoai sâm du nhập và được trồng ở các tỉnh như Lào Cai, Hòa Bình, Lâm Đồng,… là cây thân thảo lâu năm, có chiều cao lên tới 2-2,5 m. Lá có màu xanh đậm, hình trái tim, chiều dài lên đến 50 cm tính từ cuống và chiều rộng lên đến 40 cm. Thân cây xanh nhạt đến tím, đường kính 2-5 cm. Hoa giống hoa hướng dương, nhưng nhỏ hơn. Loại cây này có củ, mỗi cây có củ trung bình từ 2-3 kg, tối đa 5 kg. Vỏ và thịt củ có màu trắng hoặc kem, vàng, cam, đỏ hoặc tím. Rễ củ ăn được, thường nặng từ 200-500 g, nhưng có thể lên đến 2000 g.[5,6]

Nghiên cứu trước đây đã chỉ ra thành phần hóa học của củ Khoai sâm bao gồm các hợp chất polyphenol[7-9] và carbohydrate. Trong đó, thành phần chính bao gồm

fructooligosaccharide (FOS).[10-12] FOS được chứng minh lên men hoàn toàn trong ruột kết bởi probiotic, nhóm vi khuẩn có lợi tạo thành một phần của hệ vi sinh đường ruột,[13] ngăn ngừa và kiểm soát táo bón.[14] Đặc biệt, trà Khoai sâm đã được nghiên cứu có khả năng giảm lượng đường trong máu của chuột bình thường và chuột đái tháo đường [15]. Với nhiều hoạt tính đáng quý như vậy, củ Khoai sâm được xem như là nguồn dược liệu tiềm năng trong điều trị bệnh đái tháo đường.

Hình 1. Củ Khoai sâm

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Củ Khoai sâm được thu hái tại xã Y Tý, huyện Bát Xát, tỉnh Lào Cai vào tháng 9 năm 2024. Mẫu này được bảo quản và lưu giữ tại Phòng Hóa sinh Nông nghiệp và Tinh dầu - Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST).

2.2. Hóa chất và thiết bị

Acid acetic (độ tinh khiết ≥ 99,5%), acid ascorbic, acid citric (độ tinh khiết ≥ 99,5%), D-glucose, nước cất và giấy lọc Whatman số 1.

Máy ép chậm Elmich.

Máy Khúc xạ kế RHB-92T.

Máy sấy phun model ADL311S-A.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Lựa chọn nguyên liệu

Củ Khoai sâm được thu hoạch đúng mùa, tươi và không bị dập nát để đảm bảo hàm lượng FOS đạt mức cao nhất.

2.3.2. Phương pháp xử lý mẫu Khoai sâm

Nguyên liệu củ Khoai sâm được rửa nhiều lần bằng nước, đảm bảo sạch đất, cát và các tạp khác. Tiếp theo củ Khoai sâm được cắt thành lát mỏng dày 0,3-0,5 cm, sản phẩm sau quá trình cắt thái lát phải đồng đều về kích thước, không bị dập nát, gãy, nứt,…

2.3.3. Xác định hàm lượng dịch ép

Từ 1.000 g củ Khoai sâm được xử lý theo phương pháp mô tả trong Mục 2.2.2. Sử dụng máy ép chậm tiến hành ép thu dịch. Thí nghiệm được lặp lại ba lần lấy kết quả trung trình. Hàm lượng dịch ép được tính theo công thức:

$$H\ (\%) = 100 \times m_1/m$$

trong đó: H (%) là phần trăm hàm lượng dịch ép, m (g) khối lượng Khoai sâm ban đầu, m_1 là khối lượng dịch ép thu được.

2.3.4. Xác định các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng siro và bột Khoai sâm

Tiến hành thí nghiệm ép củ Khoai sâm (có vỏ và không vỏ), kết hợp sử dụng chất bổ trợ chống oxi hóa acid ascorbic, acid citric, acid acetic với cùng hàm lượng được bổ sung trong quá trình ép. Các thí nghiệm được thực hiện ở quy mô 1.000 g củ tươi/mẻ, lặp lại ba lần.

2.3.5. Phương pháp cô đặc dịch ép tạo siro Khoai sâm

Dịch ép từ củ Khoai sâm được tiến hành cô đặc nhờ quá trình bay hơi, dịch ép được đun sôi làm hơi nước bốc lên chuyển dịch ép từ 10^o Brix cô đặc đến nồng độ 70^o-72^o Brix thì kết thúc quá trình cô đặc.

2.3.6. Phương pháp sấy phun dịch ép tạo bột Khoai sâm

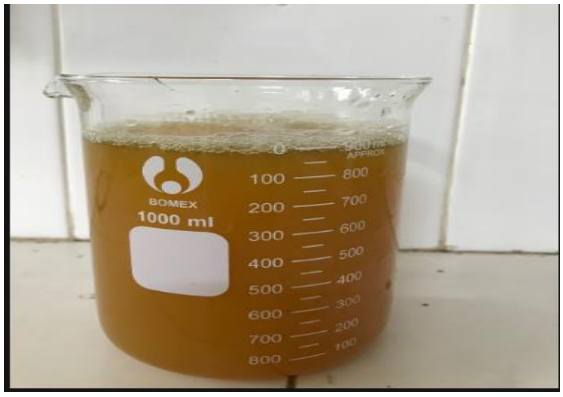
Sấy phun là phương pháp sản xuất bột khô từ chất lỏng bằng cách làm khô nhanh bởi khí nóng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp sấy phun để sản xuất bột Khoai sâm từ dịch ép. Quá trình được thực hiện trên thiết bị Máy sấy phun model ADL311S-A.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tạo dịch ép trong củ khoai sâm

Từ 1.000 g củ Khoai sâm, tiến hành xử lý mẫu theo phương pháp đã mô tả. Sau đó, sử dụng máy ép chậm thu được 830 g dịch ép màu vàng cam. Như vậy, trong củ Khoai sâm, dịch nước ép chiếm 83% trọng lượng.

Hình 2. Củ Khoai sâm được thái lát



Hình 3. Dịch ép củ Khoai sâm gọt vỏ và có dùng chất bổ trợ chống oxi hóa (acid ascobic)

3.2. Ảnh hưởng của vỏ củ đến màu sắc và vị siro Khoai sâm

Vỏ chứa nhiều nhựa làm ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm tạo ra từ củ Khoai sâm như: hương vị đắng nhẹ và màu sẫm hơn, bị oxi hóa nhanh hơn. Như vậy, cần phải rửa sạch và gọt bỏ hoàn toàn vỏ Khoai sâm để làm nguyên liệu tạo ra các sản phẩm từ củ Khoai sâm.

Hình 4. Dịch ép từ củ Khoai sâm không gọt vỏ và không dùng chất bổ trợ chống oxi hóa

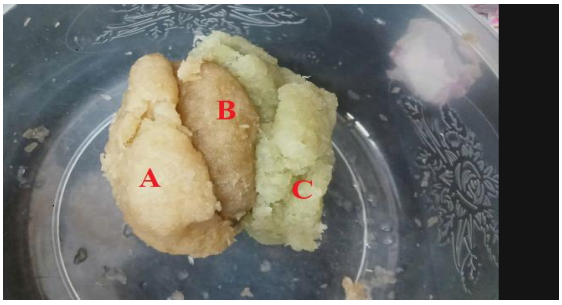
3.3. Ảnh hưởng của các chất bổ trợ chống oxi hóa

Trong quá trình ép dịch Khoai sâm, xảy ra một hiện tượng như: Màu nước ép củ Khoai sâm ban đầu là màu vàng cam nhưng chỉ sau 10-15 s, nước ép chuyển sang màu xanh lá cây đậm, dịch ép rất dễ bị oxi hóa. Cách tốt nhất để siro không bị chuyển màu là ngăn chặn quá trình oxi hóa bằng enzym xảy ra. Trong nghiên cứu này đã thực hiện bằng cách thêm chất chống oxi hóa vào dịch ép. Bước đầu, chúng tôi đã tiến hành thử nghiệm trên ba chất chống oxi hóa khác nhau: acid citric, acid acetic, acid ascorbic với cùng khối lượng được thêm vào dịch ép.

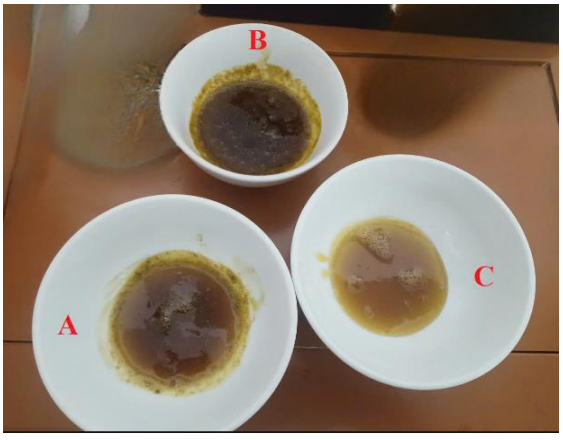
Kết quả thu được trình bày trên Hình 5.

Từ các kết quả thu được cho thấy, màu sắc của siro khi sử dụng acid ascorbic làm chất bổ trợ chống oxi hóa có màu sắc đẹp nhất. Về hương vị, kết quả cho thấy acid acetic làm ảnh hưởng đến vị của siro và acid citric có tác dụng phụ làm tăng tính acid của siro Khoai sâm dẫn đến làm tăng tốc độ chuyển hóa FOS thành đường đơn hay làm giảm chất lượng của siro Khoai sâm.

Như vậy, acid ascorbic được chọn làm chất bổ trợ chống oxi hóa trong quá trình ép thu dịch. Hàm lượng acid ascorbic thêm theo tỷ lệ 0,15 g/kg củ Khoai sâm.[16]



Hình 5. Màu sắc của bã ép khi sử dụng các chất bổ trợ chống oxi hóa
(A: acid acetic, B: acid citric, C: acid ascorbic)



Hình 6. Màu sắc của siro khi sử dụng các chất bổ trợ chống oxi hóa
(A: acid acetic, B: acid citric, C: acid ascorbic)

3.4. Quy trình tạo sản phẩm siro từ củ Khoai sâm

Từ kết quả thu được khi khảo sát các điều kiện thích hợp và tài liệu tham khảo,[16] quy trình sản xuất siro Khoai sâm được xây dựng và áp dụng trong quy mô phòng thí nghiệm được mô tả như sau:

Lựa chọn nguyên liệu: Củ Khoai sâm được thu hoạch đúng mùa, tươi, không bị dập nát;

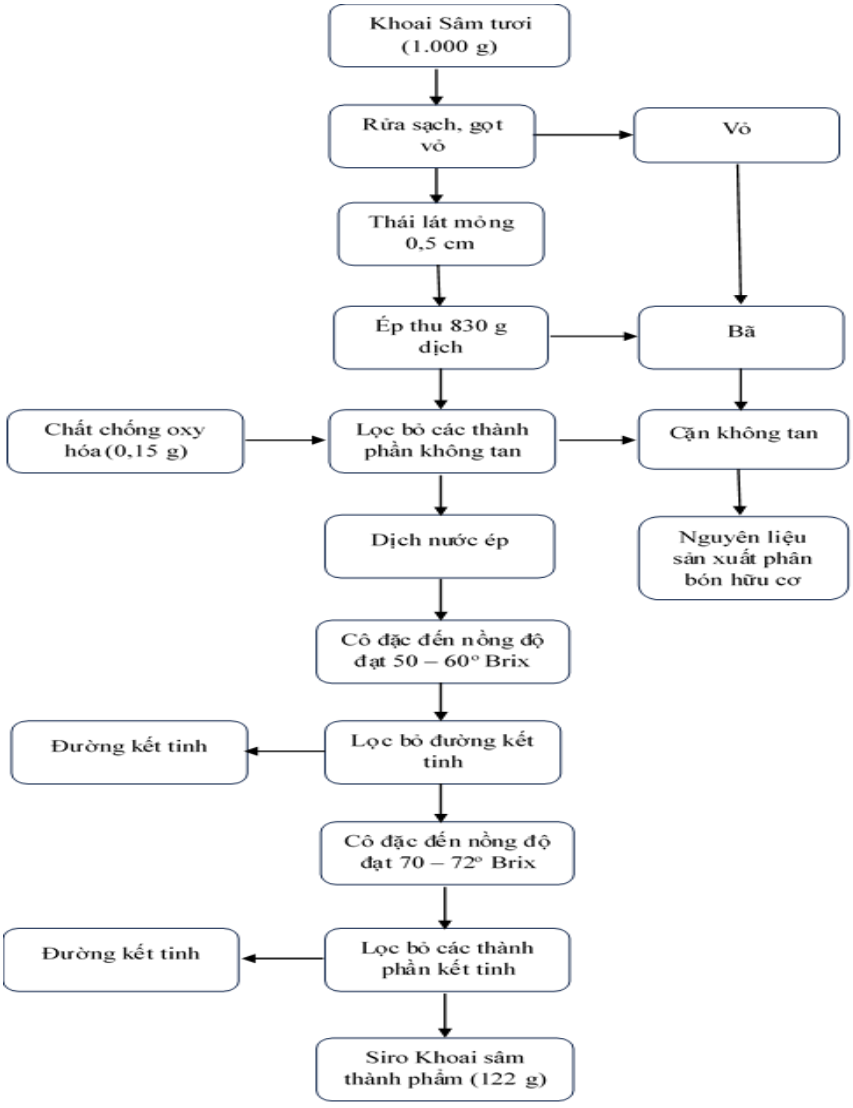
Xử lý nguyên liệu: Củ Khoai sâm được rửa sạch loại bỏ đất, cát, các tạp bẩn, gọt vỏ và thái lát mỏng;

Hình 7. Siro Khoai sâm thành phẩm

Ép thu dịch chiết và bổ sung chất chống oxi hóa: Sử dụng máy ép chậm, tiến hành ép Khoai sâm để thu dịch ép và bổ sung chất chống oxi hóa acid ascorbic với tỷ lệ 0,15 g/kg nguyên liệu;

Lọc dịch ép, lọc qua giấy lọc để loại bỏ những phần không tan;

Tiến hành cô đặc tạo siro.



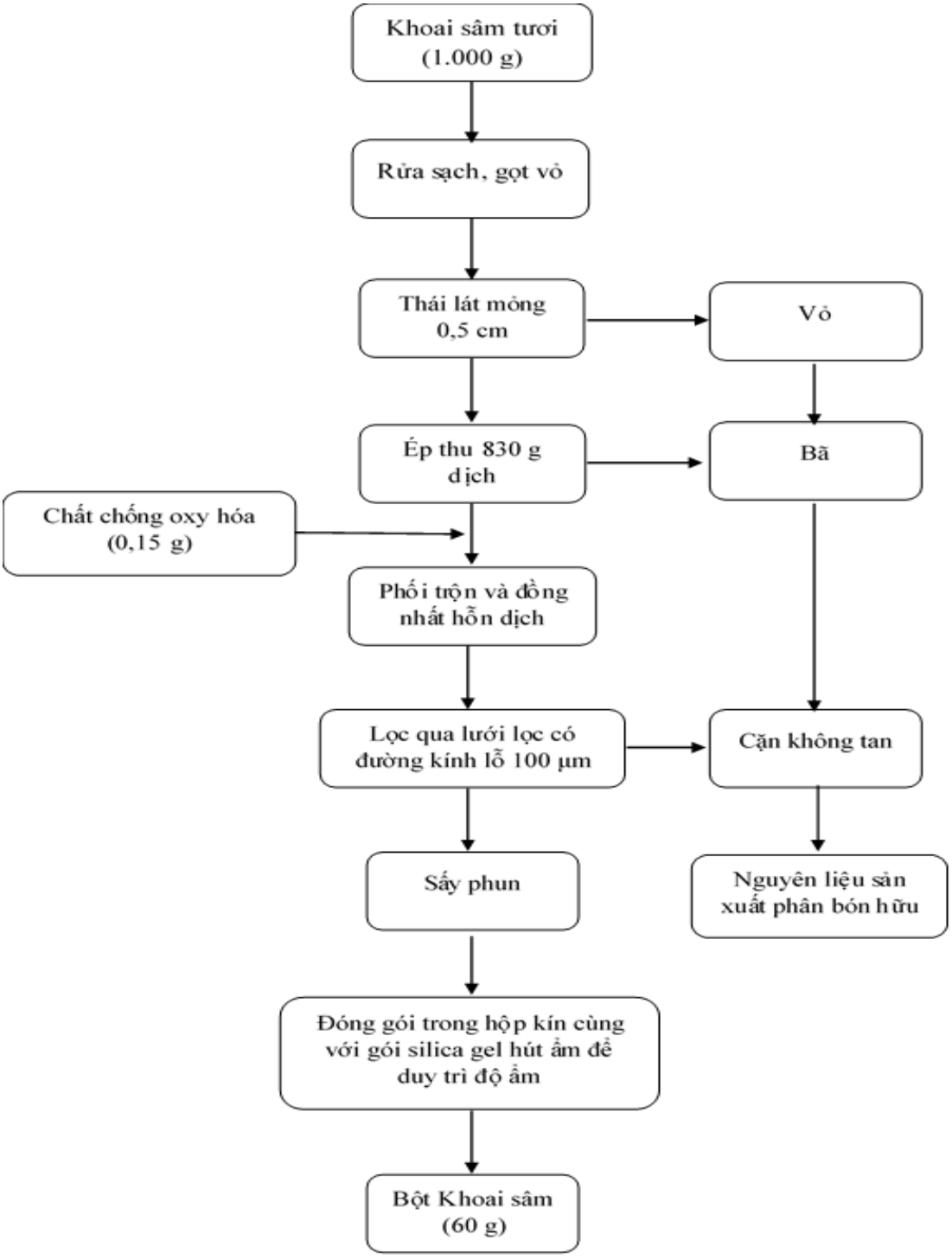
Sơ đồ 1. Quy trình tạo siro Khoai sâm

3.5. Quy trình tạo sản phẩm bột từ củ Khoai sâm

Từ kết quả thu được khi khảo sát các điều kiện thích hợp và tài liệu tham khảo,[16] quy trình sản xuất bột Khoai sâm được xây dựng và áp dụng trong quy mô phòng thí nghiệm được mô tả như sau:

Lựa chọn nguyên liệu: Lựa chọn những củ được thu hoạch đúng mùa vụ, tươi, không bị dập nát;

Xử lý nguyên liệu: Khoai sâm được rửa sạch loại bỏ đất, cát, các tạp bẩn, gọt vỏ và thái lát mỏng;



Sơ đồ 2. Quy trình tạo bột Khoai sâm

Ép thu dịch chiết và bổ sung chất chống oxi hóa: Sử dụng máy ép chậm, tiến hành ép Khoai sâm để thu dịch ép và bổ sung chất chống oxi hóa acid ascorbic với tỷ lệ 0,15 g/kg nguyên liệu;

Lọc dịch ép, lọc qua giấy lọc để loại bỏ những phần không tan;

Tiến hành sấy phun tạo bột.

Hình 8. Bột Khoai sâm thành phẩm

4. KẾT LUẬN

Như vậy, nghiên cứu này đã đưa ra quy trình tạo sản phẩm siro và bột từ củ Khoai sâm. Trên thế giới, các quy trình tạo sản phẩm từ củ Khoai sâm đã được nghiên cứu từ rất lâu, tuy nhiên ở Việt Nam đây là nghiên cứu đầu tiên về quy trình tạo sản phẩm từ loài dược liệu này, kết quả nghiên cứu hiện tại là cơ sở ban đầu cho các nghiên cứu tiếp theo khi tiến hành sản xuất với quy mô lớn, đa dạng hóa các sản phẩm từ cây Khoai sâm và nâng cao giá trị kinh tế cũng như giá trị khoa học của dược liệu này.

Mặc khác, việc tạo chế phẩm siro và bột từ củ Khoai sâm giúp người nông dân khắc phục khó khăn trong việc tiêu thụ và bảo quản trong sản xuất và đặc biệt đây là cách thức mới để tiêu thụ Khoai sâm như một thực phẩm hỗ trợ cho dân số mắc bệnh đái tháo đường.

Lời cảm ơn. Nghiên cứu này được thực hiện bởi kinh phí của Đề tài cơ sở chọn lọc mã số CSCL07.01/24-25.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nathan D. M., Genuth S., Lachin J., Cleary P., Crofford O., Davis M., Rand L., Siebert C. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus, *New England Journal of Medicine*, **1993**, *329*, 977-986.
2. Global report on diabetes. https://www.who.int/publications/i/item/9789241565257.
3. Saedi E., Gheini M. R., Faiz F., Arami M. A. Diabetes mellitus and cognitive impairments, *World Journal of Diabetes*, **2016**, *7*, 412-422.
4. Ran X. K., Win Aung K. K., Bai J., Dou P. Y., Zeng Z., Dou D. Q. Two new sesquiterpene lactones from leaves of yacon, *Smallanthus sonchifolius. Journal of Asian Natural Products Research*, **2018**, *20*, 538-544.
5. Kamp L., Hartung J., Mast B., Graeff-Hönninger S. Plant growth, tuber yield formation and costs of three different propagation methods of yacon (*Smallanthus sonchifolius*), *Industrial Crops and Products*, **2019**, *132*, 1-11.

6. Tamhid H. A., Hertiani T., Murti Y. B., Murwanti R. Quantification of Enhydrin and Uvedalin in the Ethanolic Extract of *Smallanthus sonchifolius* Leaves Validated by the HPLC Method, *Molecules*, **2023**, *28*.

7. Jirovský D., Horáková D., Kotouček M., Valentová K., Ulrichová J. Analysis of phenolic acids in plant materials using HPLC with amperometric detection at a platinum tubular electrode, *Journal of Separation Science*, **2003**, *26*, 739-742.

8. Takenaka M., Yan X., Ono H., Yoshida M., Nagata T., Nakanishi T. Caffeic acid derivatives in the roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2003**, *51*, 793-796.

9. Valentová K., Ulrichová J. *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii* - prospective Andean crops for the prevention of chronic diseases, *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, **2003**, *147*, 119-130.

10. Asami T., Kubota M., Minamisawa K., Tsukihashi T. Chemical Composition of Yacon, a New Root Crop from the Andean Highlands, *Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, **1989**, *60*, 122-126.

11. Ohyama T., Ito O., Yasuyoshi S., Ikarashi T., Minamisawa K., Kubota M., Tsukihashi T., Asami T. Composition of storage carbohydrate in tubers of yacon (*Polymnia sonchifolia*). *Soil Science and Plant Nutrition*, **1990**, *36*, 167-171.

12. Goto K., Fukai K., Hikida J., Nanjo F., Hara Y. Isolation and Structural Analysis of Oligosaccharides from Yacon (*Polymnia sonchifolia*). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **1995**, *59*, 2346-2347.

13. Pedreschi R., Campos D., Noratto G., Chirinos R., Cisneros-Zevallos L. Andean yacon root (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Endl) fructooligosaccharides as a potential novel source of prebiotics, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2003**, *51*, 5278-5284.

14. Chen H. L., Lu Y. H., Lin J. J., Ko L. Y. Effects of isomalto-oligosaccharides on bowel functions and indicators of nutritional status in constipated elderly men, *Journal of the American College of Nutrition*, **2001**, *20*, 44-49.

15. Aybar M. J., Sánchez Riera A. N., Grau A., Sánchez S. S. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallantus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats, *Journal of Ethnopharmacol*, **2001**, *74*, 125-132.

16. Manrique I., Parraga A., Hermann M. Yacon syrup: Principles and proccessingento. *International Potato Center*, **2005**.

Liên hệ: **Nguyễn Thị Hồng Vân**
Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: nguyenthihongvan.inpc.vast@gmail.com / van762004@yahoo.com.

HOẠT TÍNH KHÁNG KÝ SINH TRÙNG SỐT RÉT *Plasmodium falciparum* CỦA MỘT SỐ LOÀI THỰC VẬT Ở VIỆT NAM

Trần Thị Phương Thảo[1*], Lê Quang Trường[1], Trần Đăng Nguyên[1], Trần Văn Lộc[1], Nguyễn Thị Lưu[1], Nguyễn Thế Anh[1], Nguyễn Thị Dung[1], Bùi Quang Phúc[2], Nguyễn Thị Thuỳ Dương[2], Nguyễn Quốc Bình[3], Chu Thị Thu Hà[4], Ngô Văn Hưng[5], Lê Thị Hồng Nhung[5], Lý Thị Thu Hoài[6], Myint Myint Khine[7], Irina Smirnova[8]

[1]*Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam*

[2]*Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương, 34, Trung Văn, Nam Từ Liêm, Hà Nội, Việt Nam*

[3]*Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam*

[4]*Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam*

[5]*Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội, 298, Cầu Diễn, Minh Khai, Bắc Từ Liêm, Hà Nội*

[6]*Trường Đại học Quảng Bình, 312, Lý Thường Kiệt, Đồng Phú, Đồng Hới, Quảng Bình*

[7]*Trường Đại học Yangon, đường University Avenue, Kamayut, thành phố Yangon, Myanmar*

[8]*Viện Hoá học - Trung tâm nghiên cứu Khoa học Ufa - Viện Hàn lâm Khoa học Nga, 71, Prospect Oktyabrya, Ufa, CHLB Nga*

Ngày nhận bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

9 loài thực vật được thu hái tại các vùng miền khác nhau ở Việt Nam gồm: giổi Bắc Bộ (*Magnolia balansae* Aug. DC.), câu đằng lá to (*Uncarica macrophylla* Wall in Roxb), rau má (*Centella asiatica* (L.) Urb), xương rắn (*Euphorbia milii* Des Moul.), lan lô hội *(Cymbidium aloifolium* (L.) Sw.), lan kiếm treo *(Cymbidium atropurpureum* (Lindl.) Rolfe), dạ hợp Bidoup (*Magnolia bidoupensis* Q.N. Vu), nữ lang (*Valeriana jatamansi* Jones), bơ (*Persea americana* Mill) được nghiên cứu khả năng kháng ký sinh trùng sốt rét (KSTSR) trên hai chủng là chủng nhạy chloroquine *P. falciparum* T96 và chủng kháng chlorquine *P. falciparum* K1. Kết quả cho thấy các mẫu dịch chiết của các loài giổi Bắc Bộ (*M. balansae*), dạ hợp Bidup (*M. bidupensis*) và lan kiếm treo (*C. atropurpureum*) cho hoạt tính tốt nhất trên chủng *P. falciparum* T96 với IC_{50} là 31,63 µg/mL; 45,09 µg/mL; 43,08 µg/mL và trên chủng *P. falciparum* K1 với IC_{50} là 46,25 µg/mL; 48,86 µg/mL; 48,69 µg/mL. Loài câu đằng lá to thể hiện hoạt tính yếu trên chủng *P. falciparum* T96 (IC_{50} = 87,18 µg/mL) và không thể hiện hoạt tính trên chủng *P. falciparum* K1 (IC_{50} > 100 µg/mL). Các loài còn lại không thể hiện hoạt tính trên cả hai chủng KSTSR nghiên cứu. Đây là lần đầu tiên hoạt tính kháng KSTSR trên hai chủng *P. falciparum* T96 và *P. falciparum* K1 của tất cả các loài nghiên cứu được đánh giá.

Từ khóa: Kháng ký sinh trùng sốt rét, thực vật, *P. falciparum*, giổi Bắc Bộ, dạ hợp Bidoup, lan kiếm treo.

1. MỞ ĐẦU

Sốt rét là bệnh truyền nhiễm cấp tính gây ra bởi ký sinh trùng sốt rét (KSTSR) bao gồm: *Plasmodium falciparum, Plasmodium malariae, Plasmodium ovale, Plasmodium vivax* và *Plasmodium knowlesi.*[1] Bệnh được truyền sang người qua vết cắn của muỗi cái *Anopheles* đã

nhiễm ký sinh trùng (KST). Khi điều trị đúng cách, người bệnh có thể khỏi bệnh hoàn toàn. Tuy nhiên, sốt rét nặng (sốt rét ác tính) có thể tiến triển nhanh chóng và gây tử vong chỉ trong vòng vài giờ hoặc vài ngày. Đối với hầu hết các ca bệnh nặng phải có chế độ chăm sóc và điều trị đặc biệt, tỉ lệ tử vong có thể lên đến 20%. Năm 2023, trên thế giới ước tính có khoảng 263 triệu ca sốt rét tại 83 quốc gia, tăng 11 triệu ca so với năm 2022, trong đó tổng số ca tử vong do sốt rét là 600.000 ca vào năm 2022 và 597.000 ca vào năm 2023.[2] *P. falciparum* là nguyên nhân gây ra 99,7% số ca mắc ở khu vực châu Phi, 50% số ca ở Đông Nam Á, 71% số ca ở Đông Địa Trung Hải và 65% số ca ở Tây Thái Bình Dương. Tại Việt Nam, theo số liệu của Viện Sốt rét - Ký sinh trùng và Côn trùng Trung ương, trong 10 năm qua, số trường hợp mắc và tử vong do sốt rét giảm dần qua các năm và đã giảm 35 lần. Tuy nhiên, trong những năm gần đây, số ca mắc sốt rét, đặc biệt là tại các tỉnh miền núi có xu hướng tăng trở lại do KST kháng thuốc, muỗi truyền bệnh kháng hóa chất diệt muỗi, di dân, điều kiện phòng chống muỗi truyền bệnh còn thấp, người bệnh uống thuốc chưa đúng cách,… Trong năm 2023, Việt Nam ghi nhận 448 ca mắc sốt rét. Trong 18 tuần đầu năm 2024, toàn quốc ghi nhận 141 trường hợp mắc sốt rét, tăng 107,4% so với cùng kỳ năm 2023.[3]

Cho đến nay, đã có nhiều loại thuốc có nguồn gốc thảo dược và thuốc tổng hợp đã được sử dụng để điều trị bệnh sốt rét như: artemisinin, artesunat, lumefantrin, mefloquin, dihydroartemisin (DHA), piperaquin (PPQ), quinin, amodiaquin, proguanil, pirethamin,... Trong đó, quinine được phân lập từ vỏ cây ký ninh (*Cinchona calisaya*), artemisinin được phân lập từ lá cây thanh hao hoa vàng (*Artemisia annua*) là các loại thuốc chữa bệnh sốt rét được biết đến trong hàng thế kỷ qua. Tuy nhiên, KSTSR đang kháng thuốc và có nguy cơ lan rộng, gây khó khăn cho việc điều trị bệnh.[1] Các nghiên cứu đã chỉ ra có 3/5 loài KST kháng thuốc và đa kháng thuốc là: *P. falciparum*, *P. vivax* và *P. malariae*. Trong đó, *P. falciparum* là KST gây ra phổ kháng thuốc rộng và đa kháng thuốc. Vì vậy, việc tìm ra các loại thuốc mới để điều trị bệnh sốt rét là điều cần thiết và cấp bách, góp phần điều trị hiệu quả bệnh sốt rét. Trong những năm gần đây, các nghiên cứu sàng lọc và tìm kiếm các loài thực vật có hoạt tính kháng KSTSR trên thế giới đang gia tăng, cho thấy tiềm năng tìm kiếm các loại thuốc chống sốt rét mới từ thực vật. Từ 2001 đến nay, khoảng 2.000 loài thực vật đã được các nhà khoa học trên thế giới sàng lọc hoạt tính kháng KSTSR. Kết quả là, hơn 1.600 hợp chất từ thực vật có tác dụng kháng ít nhất một dòng KST *Plasmodium* đã được công bố, chủ yếu thuộc các lớp chất alkaloid, terpenoid, flavonoid và polyphenol.[4-8] Trong đó, nhiều hợp chất có triển vọng trở thành chất dẫn đường, hoặc có tiềm năng nghiên cứu lâm sàng do có hoạt tính tốt trên cả KST kháng đa thuốc, có độ chọn lọc tốt, không gây độc như vitetrifolin E phân lập từ loài từ bi biển (*Vitex rotundifolia*), 15β-hydroxycryptopleurine-N-oxide phân lập từ loài *Hypoestes forskaolii*.[9]

Nguồn cây cỏ thực vật nước ta vô cùng phong phú và đã được dân gian sử dụng hiệu quả trong việc điều trị bệnh sốt rét như na (*Annona squamosa* L.), thường sơn (*Dichroa febrigura* Lour), thảo quả (*Amomum aromaticum* Roxb), hà thủ ô trắng (*Streptocaulon juventas* Merr.),...[10] Năm 2003, Lê Trần Quân và cộng sự kết hợp với nhóm nghiên cứu Nhật Bản đã sàng lọc hoạt tính kháng KSTSR của 14 loài thực vật ở Việt Nam. Kết quả cho thấy dịch chiết methanol của loài vàng đắng (*Coscinium fenestratum*) thể hiện hoạt tính tốt nhất với giá trị EC_{50} 0,5 µg/mL.[11] Năm 2007, các nhà khoa học tại Bệnh viện Nhiệt đới Thành phố Hồ Chí Minh đã kết hợp với các nhà khoa học Pháp tiến hành sàng lọc hoạt tính kháng KSTSR của 49 loài thực vật thu hái tại miền Nam Việt Nam. Trong đó, đặc biệt hai loài thuộc họ Tiết dê (Menispermaceae) là dây hoàng liên (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) và hoàng đằng (*Fibraurea tinctoria* Lour.) thể hiện hoạt tính kháng KSTSR tiềm năng với giá trị IC_{50} lần lượt là 0,4 và 1,1 µg/mL.[12] Năm 2010, Đái Thị Xuân Trang và các cộng sự đã tiến hành khảo sát hoạt tính kháng KSTSR của 8 loài thực vật thu hái tại một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long. Nhóm tác giả đã đánh giá khả năng ức chế sự tổng hợp hemozoin hay β-hematin (BH) của KSTSR *in vitro*. Kết quả cho thấy dịch chiết methanol từ cây càng cua (*Peperomia*

pellucida) có hoạt tính ức chế sự hình thành BH với giá trị IC_{50} là 0.8 mg/mL.[13] Việc nghiên cứu phân lập và bán tổng hợp một số dẫn xuất artemisin đã được các nhà khoa học tại Viện Hóa học (Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam - VAST) thực hiện từ nhiều năm trước. Năm 1998, nhóm nghiên cứu của GS.TSKH. Trần Văn Sung và cộng sự đã tiến hành tổng hợp quang hóa các dẫn xuất oxoalkyl của dihydroartemisinin.[14] Năm 2014, nhóm nghiên cứu của GS.TS. Nguyễn Văn Hùng và cộng sự tại Viện Hóa học (Viện Hàn lâm KH&CNVN) đã tiến hành bán tổng hợp các dẫn xuất 11-aza-artemisinin bằng phản ứng đa cấu tử Ugi và sàng lọc hoạt tính kháng KSTSR trên chủng *P. falciparum* dòng FcB1. Kết quả cho thấy các dẫn xuất có nhóm thế amide với mạch càng dài và độ cồng kềnh càng cao càng cho hoạt tính kháng KSTSR càng mạnh.[15]

Trong khuôn khổ đề tài nghiên cứu tìm kiếm các loài thực vật có hoạt tính kháng KSTSR ở Việt Nam, 9 loài thực vật được thu hái tại các vùng miền khác nhau đã được chúng tôi lựa chọn làm đối tượng nghiên cứu bao gồm: giổi Bắc Bộ (*Magnolia balansae* Aug. DC.), câu đằng lá to (*Uncarica macrophylla* Wall in Roxb.), rau má (*Centella asiatica* (L.) Urb), Xương rắn (*Euphorbia milii* Des Moul.), lan lô hội *(Cymbidium aloifolium* (L.) Sw.), lan kiếm treo (*Cymbidium atropurpureum* (Lindl.) Rolfe), dạ hợp Bidoup (*Magnolia bidoupensis* Q.N. Vu), nữ lang (*Valeriana jatamansi* Jones), bơ (*Persea americana* Mill). Các mẫu nghiên cứu được lựa chọn trên cơ sở tham khảo tài liệu trong và ngoài nước về hoạt tính sinh học, thành phần hóa học có chứa các hoạt chất có tiềm năng kháng KSTSR, kết hợp tham khảo các công dụng đã được dùng trong dân gian. Dịch chiết của 9 loài trên được đánh giá khả năng kháng KSTSR trên hai chủng là chủng chuẩn nhạy chloroquine *P. falciparum* T96 và chủng kháng chloroquine *P. falciparum* K1. Kết quả cho thấy có 3 loài thể hiện hoạt tính kháng KSTSR khả quan nhất là giổi Bắc Bộ (*M. balansae*), lan kiếm treo *(C. atropurpureum*) và dạ hợp Bidoup (*M. bidoupensis*) với giá trị IC_{50} tương ứng trên chủng *P. falciparum* T96 là 31,63 µg/mL; 43,08 µg/mL; 45,29 µg/mL và trên chủng *P. falciparum* K1 là 46,25 µg/mL, 48,69 µg/mL và 48,86 µg/mL. Đây là lần đầu tiên hoạt tính kháng KSTSR trên hai chủng *P. falciparum* T96 và *P. falciparum* K1 của các loài nghiên cứu được đánh giá.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Mẫu thực vật

Mẫu giổi Bắc Bộ (*Magnolia balansae*, tên tiêu bản T1) được thu hái tại thành phố Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng vào tháng 7/2023. Mẫu câu đằng lá to (*Uncarica macrophylla*, tên tiêu bản T2) được thu thập tại thị xã Xuân Mai, tỉnh Hòa Bình vào tháng 7/2023. Mẫu rau má (*Centella asiatica*, tên tiêu bản T3) được thu thập tại huyện Quảng Điền, tỉnh Thừa Thiên Huế vào tháng 8/2023. Mẫu xương rắn (*Euphorbia milii,* tên tiêu bản T4) được thu thập tại thị xã Sơn Tây, Hà Nội vào tháng 01/2024. Mẫu loài lan lô hội (*Cymbidium aloifolium,* tên tiêu bản T5) được thu thập tại Vườn Quốc gia Vũ Quang, huyện Vũ Quang, Hà Tĩnh vào tháng 01/2024. Mẫu dạ hợp Bidoup (*Magnolia bidoupensis*, tên tiêu bản T6) được thu thập tại Vườn Quốc gia Bidup, Núi Bà, tỉnh Lâm Đồng vào tháng 8/2023. Mẫu lan kiếm treo (*Cymbidium atropurpureum*, tên tiêu bản T7) được thu thập tại thành phố Đồng Hới, tỉnh Quảng Bình vào tháng 6/2024. Mẫu nữ lang (*Valeriana jatamansi*, tên tiêu bản T8) được thu thập tại đỉnh Hoàng Liên Sơn, Sapa, Lào Cai vào tháng 01/2024. Mẫu quả bơ (*Persea americana*, tên tiêu bản T9) được thu tại huyện Krông Pắk, tỉnh Đắk Lắk vào tháng 3/2024. Các mẫu tiêu bản được lưu giữ tại Phòng Tổng hợp hữu cơ, Viện Hóa học. Các mẫu T2, T3, T4 và T9 được định danh bởi ThS. Nguyễn Thế Anh, Viện Hóa học. Các mẫu T5, T7 và T8 được định danh bởi TS. Nguyễn Quốc Bình, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam (VAST). Các mẫu T1 và T6 được định danh bởi PGS.TS. Vũ Quang Nam, Viện Công nghệ sinh học Lâm nghiệp (Trường Đại học Lâm nghiệp Hà Nội). Danh sách các loài thực vật gồm tên khoa học, tên tiếng Việt,

ngày tháng, địa điểm thu mẫu, bộ phận nghiên cứu, công dụng trong dân gian được đưa ra ở Bảng 1.

2.2. Hóa chất và thiết bị

Các thiết bị sử dụng trong nghiên cứu này bao gồm: máy quay cất chân không Buchi (Thụy Sĩ), máy sấy, máy siêu âm, tủ an toàn sinh học cấp II (Esco, Singapore), cân phân tích CP224S (Sartorius, Đức), tủ ấm (Memmert, Đức), tủ lạnh (LG, Hàn Quốc), máy đo pH-827 (Thermos, Đức), máy lắc Votex, genius 3 (IKA, Đức), máy khuấy từ C-MAG HS7 (IKA, Đức), máy đo Hematocrit Z216M (HERMLE, Đức), bình nuôi ký sinh trùng (Bel-Art, Mỹ), kính hiển vi quang học (ZEISS, Đức). Hóa chất và sinh phẩm dùng cho thí nghiệm: huyết thanh & hồng cầu người nhóm máu "O" (Viện Huyết học truyền máu Trung ương), DMSO (Sigma, Mỹ), methanol >99,98% (Merck, Đức), Giemsa gốc (Merck, Đức), thuốc chloroquine (dạng bột, hàm lượng > 98%, (Sigma, Đức), chủng chuẩn nhạy chloroquine T96 và chủng kháng chloroquine K1 (Phòng thí nghiệm Khoa Nghiên cứu lâm sàng và thực nghiệm, Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương), nước cất, môi trường RP bao gồm: RPMI 1640, gentamycin, D-glucose (Lonza), môi trường RPHS bao gồm: dung dịch RP, huyết thanh người nhóm máu "O". Các dung môi MeOH, EtOH (Trung Quốc) dùng để chiết mẫu thực vật được cất lại qua cột Vigreux trước khi sử dụng. Sắc ký lớp mỏng (TLC) được thực hiện trên bản mỏng silica gel Merck 60 F_{254}. Phát hiện vệt chất trên lớp mỏng bằng đèn tử ngoại (UV λ 254 nm) và thuốc thử vanilin/H_2SO_4 đặc, thuốc thử Dragendorff để phát hiện các chất alkaloid.

2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng ký sinh trùng sốt rét *Plasmodium falciparum*

Phép thử đánh giá hoạt tính kháng KSTSR *P. falciparum* T96 và K1 được thực hiện tại Viện sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương, Bộ Y tế. Quy trình kỹ thuật nuôi cấy liên tục ký sinh trùng sốt rét *P. falciparum* trong phòng thí nghiệm đã được Viện sốt rét - Ký sinh trùng - Công trùng Trung ương phê duyệt.[16] Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng ký sinh trùng sốt rét *P. falciparum* được thực hiện dựa trên phương pháp tiêu chuẩn đã được WHO công nhận, kết hợp tài liệu tham khảo.[2,17]

2.3.1. Chuẩn bị môi trường nuôi cấy

Pha môi trường RPHS: Lấy 250 mL môi trường RP vào ống falcon, sau đó thêm 125 µL gentamycin (10 mg/mL), 2,5 mL D-glucoza và 45 mL huyết thanh người nhóm máu "O"; trộn đều bằng pipet, thu được môi trường nuôi cấy đầy đủ RPHS. Chuẩn bị hồng cầu nhóm máu "O": Chuẩn bị 5 mL khối hồng cầu cho vào ống falcon dung tích 15 mL, ly tâm ống với tốc độ 2.000 vòng trong 5 phút, hút bỏ toàn bộ bạch cầu và phần dịch nổi phía trên thu được thể tích cặn hồng cầu, xác định thể tích cặn hồng cầu. Thêm môi trường RP vào ống falcon chứa cặn hồng cầu theo tỷ lệ thể tích 1:1, trộn đều và ly tâm với tốc độ 2.000 vòng trong 5 phút, hút bỏ dịch nổi phía trên thu được thể tích cặn hồng cầu (thực hiện 2 lần liên tiếp). Hút 1 mL hỗn dịch của ống falcon lần lượt cho vào tuýp nhựa dung tích 3 mL. Dùng bút dạ đánh dấu vạch mốc lên ống capile, sau đó dùng ống capile mao dẫn lượng máu vào ống đến vạch mốc (dung tích máu đạt 2 µL). Sau đó cho ống vào máy đo Hct (máy đo Hct sẽ thực hiện thao tác ly tâm khi bấm nút start) với tốc độ 2.000 vòng/5 phút. Sau khi ly tâm bằng máy đo Hct, máu sẽ được tách riêng 2 phần là cặn hồng cầu và môi trường RPHS. Tiến hành đo bằng cách đặt ống capile vào thang bảng đo, sao cho điểm đầu vào vạch số 0%, điểm cuối (mốc đánh dấu bằng bút dạ) vào vạch 100%, vạch chỉ hồng cầu cho kết quả 40% là đạt yêu cầu.

2.3.2. Chuẩn bị kháng nguyên của chủng Plasmodium falciparum T96 và chủng kháng thuốc Plasmodium falciparum K1

Cấy 10 mL kháng nguyên của mỗi chủng ra lọ nhựa vô trùng (dung tích 25 mL) trước khi tiến hành thử hoạt chất 2 ngày để đạt mật độ hồng cầu nhiễm 3-5%. Sau 2 ngày, kéo lam

giọt mỏng và đếm mật độ hồng cầu nhiễm trên 10.000 hồng cầu của mẫu kháng nguyên ban đầu. Hạ mật độ hồng cầu nhiễm KST xuống 0,25-0,3% bằng cách pha loãng kháng nguyên ban đầu với hồng cầu lành hematocrit 40% (mỗi chủng chuẩn bị 5 mL kháng nguyên).

2.3.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng ký sinh trùng sốt rét

Hai chủng KSTSR *P. falciparum* T96 và *P. falciparum* K1 được nuôi cấy tại Viện sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương. Các mẫu dịch chiết (ký hiệu T1-T9) được hòa tan bằng nước cất (đối với mẫu T4, T5 và T9) hoặc DMSO (đối với mẫu T1, T2, T3, T6, T7 và T8). Bổ sung môi trường RPHS để đạt dung dịch gốc ban đầu có nồng độ là 2500 µg/mL. Pha loãng tiếp log 2 để thu được các dung dịch có nồng độ tương ứng là 1250 µg/mL; 625 µg/mL; 312,5 µg/mL; 156,25 µg/mL; 78,13 µg/mL; 39,06 µg/mL; 19,53 µg/mL; 9,77 µg/mL; 4,88 µg/mL. Hoạt chất được tiến hành thử nghiệm ở nhiều nồng độ khác nhau để xác định giá trị IC_{50} với 2 chủng KSTSR *P. falciparum* T96 và chủng kháng thuốc *P. falciparum* K1. Thêm 10 µL kháng nguyên vào các giếng chứa các nồng độ hoạt chất trên (10 nồng độ, 1 mẫu/1 chủng T96 hoặc K1). Dịch chiết được bổ sung vào các giếng có chứa kháng nguyên với 10 nồng độ theo thứ tự giảm dần. Mẫu đối chứng âm là giếng chỉ chứa môi trường nuôi cấy RPHS. Mẫu đối chứng dương gồm kháng nguyên (ký sinh trùng *Plasmodium falciparum* T96 hoặc K1) và môi trường nuôi cấy RPHS. Chất đối chứng là thuốc thương phẩm chloroquine. Đặt phiến nhựa 96 giếng có gắn mẫu thử nghiệm vào bình nuôi. Đốt nến, đậy nắp bình và cố định nắp bằng kẹp ở 3 vị trí xung quanh bình, đợi nến gần tắt, khóa vòi khí của bình lại và đặt vào trong tủ ấm 37±0,5 ^oC. Sau 24 giờ, thay khí cho bình nuôi bằng cách lấy bình nuôi ra, mở van cho khí trong bình thoát ra hết, tháo kẹp, mở nắp và đốt nến, sau đó đậy nắp bình lại và cố định bằng kẹp ở 3 vị trí xung quanh bình, đợi nến gần tắt, khóa vòi khí của bình và đặt vào trong tủ ấm 37±0,5 ^oC. Sau 48 giờ, lấy phiến nhựa ra và để nghiêng 45^o trước khi tiến hành thu hoạch 30 phút để phần cặn hồng cầu lắng nghiêng về một bên và có thể hút dịch nổi dễ dàng hơn. Nhuộm lam và soi dưới kính hiển vi, đếm số lượng hồng cầu nhiễm KST trên 10.000 hồng cầu. Xác định hoạt tính ức chế sự phát triển của KSTSR bằng cách đếm mật độ hồng cầu nhiễm trên tổng số 10.000 hồng cầu của các lam đã thu hoạch được tại các giếng có chứa nồng độ hoạt chất khác nhau. Kết quả lam thu hoạch ở các nồng độ hoạt chất khác nhau sẽ được đếm chéo bởi 2 kỹ thuật viên. Nếu kết quả chênh lệch trên 25% thì sẽ được đếm bởi kỹ thuật viên thứ 3. Giá trị IC_{50} được xác định dựa trên phần mềm phân tích trong phòng thí nghiệm (IVART) được phát triển trực tuyến bởi WWARN.

2.3.3. Chiết mẫu thực vật

Mẫu thực vật sau khi thu hái được xử lý, phân loại thành các bộ phận cành, lá, hoa, quả, hạt, vỏ, rễ. Mẫu sau đó được sấy khô, xay nhỏ và khảo sát các dung môi chiết để thu được hiệu suất chiết tối ưu, trên cơ sở kết hợp tham khảo các tài liệu của các loài nghiên cứu để thu được các cặn chiết giàu hoạt chất. 20 g bột khô/mẫu được ngâm chiết ở nhiệt độ phòng với 150 mL dung môi tương ứng (Bảng 1). Quá trình chiết được lặp lại ba lần, gộp các dịch chiết, lọc cô quay dưới áp suất giảm để loại dung môi, thu được cặn chiết. Hiệu suất chiết của các loài thực vật được thể hiện ở Bảng 1.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xử lý, thu thập, định danh và chiết mẫu thực vật

Các loài thực vật được lựa chọn trên cơ sở tra cứu tài liệu tham khảo trong nước và quốc tế về thành phần hóa học, hoạt tính sinh học, tiềm năng chứa các lớp chất có tác dụng kháng ký sinh trùng sốt rét như alkaloid, flavonoid, terpenoid,... kết hợp tìm hiểu các ứng dụng trong dân gian. Các mẫu thực vật được thu thập trong khoảng từ năm 2023 - 2024 tại các vùng miền khác nhau bao gồm ba mẫu thu tại miền Bắc: mẫu T2 - câu đằng lá to (*U. macrophylla* - Hòa Bình), T4 - xương rắn (*E. milii* - Hà Nội) và T8 - nữ lang

(*V. jatamansi* - Lào Cai), ba mẫu thu tại miền Trung: T3 – rau má (*C. asiatica* - Thừa Thiên Huế), T5 - lan lô hội (*C. aloifolium* - Hà Tĩnh) và T7 - lan kiếm treo (*C. atropurpureum* - Quảng Bình), ba mẫu thu tại miền Trung - Tây Nguyên: T1 - giổi Bắc Bộ (*M. balansae)* và T6 - dạ hợp Bidoup (*M. bidoupensis*) thu tại Lâm Đồng, T9 - bơ (*P. americana* - Đắk Lắk) (Bảng 1). Đây đều là các loài thực vật có tác dụng làm thuốc trong dân gian,[10] trừ loài T6 (*M. bidoupensis)* là loài mới được Vũ Quang Nam và cộng sự phát hiện và công bố năm 2011 tại Vườn Quốc gia Bidup - Núi Bà (Lâm Đồng).[18] Đây là một loài thực vật đặc hữu của Vườn Quốc gia Bidup, thuộc họ Ngọc lan (Magnoliaceae).

a - Giổi Bắc Bộ
Magnolia balansae

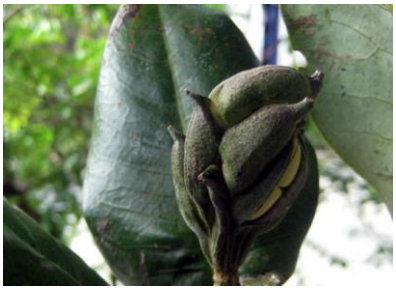
b - Câu đằng lá to
Uncarica macrophylla

c - Rau má
Centella asiatica

d - Xương rắn
Euphorbia milii

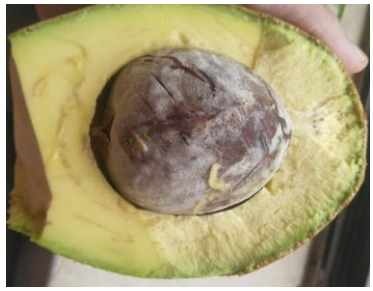
e - Lan lô hội
Cymbidium aloifolium

f - Lan kiếm treo
Cymbidium atropurpureum



g - Dạ hợp Bidoup
Magnolia bidoupensis

h - Nữ lang
Valeriana jatamansi



i - Bơ
Persea americana

Hình 1. Hình ảnh mẫu thực vật của 9 loài nghiên cứu

Dung môi chiết được khảo sát và được lựa chọn là EtOH/H_2O (mẫu T1, T2, T4-T8 tỷ lệ 9/1) và MeOH/H_2O (mẫu T3, tỷ lệ 8,5/1,5). Các dung môi được lựa chọn cho hiệu suất chiết tối ưu, trong khoảng từ 8,2-20,6 % so với trọng lượng khô (Bảng 1). Đặc biệt, mẫu rau má T3 cho hiệu suất chiết cao nhất khi sử dụng dung môi MeOH/H_2O (8,5/1,5). Thành phần hóa học chính được biết đến trong loài rau má chủ yếu là các triterpenoid, saponin,[19] polysaccharide,[20] trong đó saponin và polysaccharide chiếm hàm lượng lớn trong rau má. Vì vậy, việc sử dụng

Bảng 1. Tên khoa học, tên tiếng Việt, thời gian và địa điểm thu mẫu, bộ phận nghiên cứu, công dụng trong dân gian, dung môi chiết và hiệu suất chiết của 9 loài nghiên cứu

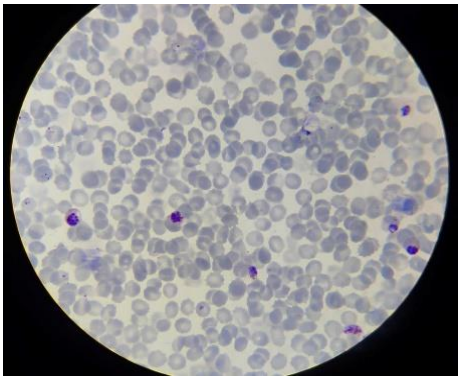
Ký hiệu mẫu	Họ/Tên loài	Tên tiếng Việt	Địa điểm/ Thời gian thu mẫu	Bộ phận nghiên cứu	Công dụng trong dân gian	Dung môi chiết	Hiệu suất chiết (%)
T1	Magnoliaceae/ *Magnolia balansae* Aug. DC.	Giổi Bắc Bộ	Đà Lạt, Lâm Đồng/ 7/2023	Cành, lá	Làm thuốc chữa ho, xoa bóp, trị phong thấp, đau bụng, ăn không tiêu, vỏ làm thuốc trị sốt, cảm cúm	Ethanol/H_2O (9/1)	8,5
T2	Rubiaceae/ *Uncaria macrophylla* Wall in Roxb	Câu đằng lá to	Xuân Mai, Hòa Bình/ 7/2023	Cành, lá	Trấn kinh, cao huyết áp, hoa mắt và khóc đêm ở trẻ con	Ethanol/H_2O (9/1)	9,3
T3	Apiaceae/ *Centella asiatica* (L.) Urb	Rau má	Quảng Điền, Thừa Thiên Huế/ 5/2024	Phần trên mặt đất	Tăng cường trí não, chữa lành da, bổ gan bổ thận	Methanol/H_2O (8,5/1,5)	20,6
T4	Euphorbiaceae *Euphorbia milii* Des Moul.	Xương rắn	Sơn Tây, Hà Nội/ 01/2024	Hoa	Điều trị đau lưng, mụn nhọt, viêm mủ da	Ethanol/H_2O (9/1)	8,5
T5	Orchidaceae/ *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw.	Lan lô hội	Rừng Quốc gia Vũ Quang, Hà Tĩnh/ 01/2024	Rễ	Chữa đau gân, điều hoà kinh nguyệt, đắp chữa trật khớp	Ethanol/H_2O (9/1)	10,2
T6	Magnoliaceae/ *Magnolia bidoupensis* Q.N. Vu	Dạ hợp Bidoup	Vườn Quốc gia Bidup, Núi Bà, Lâm Đồng/ 8/2023	Lá	Chưa có công bố [18]	Ethanol/H_2O (9/1)	10,3
T7	Orchidaceae/ *Cymbidium atropurpureum* (Lindl.) Rolfe	Lan kiếm treo	Đồng Hới, Quảng Bình/ 6/2024	Rễ	Chữa đau gân, điều hoà kinh nguyệt, đắp chữa trật khớp	Ethanol/H_2O (9/1)	9,3
T8	Caprifoliaceae/ *Valeriana jatamansi* Jones	Nữ lang	Đỉnh Hoàng Liên Sơn, Lào Cai/ 01/2024	Rễ	Chữa đau dạ dày do có thắt, nhức đầu, thuỷ thũng, đau xương khớp, rối loạn kinh nguyệt, mụn nhọt, chữa sốt cao co giật, động kinh, bồn chồn, đánh trống ngực	Ethanol/H_2O (9/1)	10,4
T9	Lauriaceae/ *Persea americana* Mill	Bơ	Krông Pắk Đắk Lắk/ 3/2024	Nhân hạt	Chống sốt rét, loét và bảo vệ dạ dày, tiêu chảy, viêm khớp và bệnh khớp, chống kết tập tiểu cầu, co giật, hạ huyết áp, giãn mạch	Ethanol/H_2O (9/1)	8,2

dung môi phân cực MeOH/H_2O cho hiệu quả chiết các lớp chất phân cực với hiệu suất cao hơn nhiều so với sử dụng dung môi EtOH/H_2O. Mẫu cành và lá của loài giổi Bắc Bộ - T1 và câu đằng lá to - T2, mẫu lá của loài dạ hợp Bidoup - T6 được sử dụng làm đối tượng nghiên cứu. Khảo sát sơ bộ bằng sắc ký lớp mỏng cho thấy dịch chiết của ba loài này đều hiện thuốc thử Dragendorff, gợi ý trong thành phần của chúng có chứa alkaloid. Alkaloid là thành phần được biết đến có mặt trong nhiều loài thuộc họ Magnoliacea. Đây cũng là lớp chất hứa hẹn tiềm năng có hoạt tính kháng ký sinh trùng sốt rét.[21] Qua tra cứu tài liệu cũng cho thấy loài câu đằng lá to có chứa nhiều alkaloid khung indole.[22] Cho đến nay, mới chỉ có rất ít công trình công bố về thành phần hóa học của hai loài giổi Bắc Bộ[23,24] và dạ hợp Bidoup.[25] Mẫu rễ của hai loài T5 - lan lô hội và T7 - lan kiếm treo được chúng tôi lựa chọn nghiên cứu. Các tài liệu đã cho thấy chi *Cymbidium* có thành phần chính là các polyphenol, đặc biệt lớp chất này có mặt nhiều trong thành phần của rễ. Đây cũng là lớp chất có tiềm năng kháng KSTSR tốt.[26] Polyphenol còn được biết đến có mặt nhiều trong nhân hạt bơ[27] và hoa xương rắn.[28] Loài nữ lang - T8 được thu thập tại đỉnh Hoàng Liên Sơn, Sapa (Lào Cai) ở độ cao 1.500 m. Đây là loài có chứa nhiều hợp chất sesquiterpene là các chất có tiềm năng kháng KSTSR. Các hợp chất này được tìm thấy nhiều trong thành phần rễ của loài này.[29]

3.2. Kết quả đánh giá hoạt tính kháng ký sinh trùng sốt rét chủng chuẩn nhạy chloroquine T96 và chủng khang chloroquine T1

Sau 48 giờ nuôi cấy (Hình 2), toàn bộ các giếng có gắn chất thử được kéo lam thu hoạch và đếm mật độ hồng cầu nhiễm trên tổng số 10.000 hồng cầu (Hình 3). Các mẫu dịch chiết được thử nghiệm trên 2 chủng ký sinh trùng sốt rét *P. falciparum* T96 và K1 trong vòng 48 giờ. Chloroquine thương phẩm có giá trị IC_{50} trên hai chủng *P. falciparum* T96 và *P. falciparum* K1 là 0,046 và 0,064 µg/mL trong cùng thí nghiệm. Kết quả cho thấy có ba loài là T1 - giổi Bắc Bộ, T6 - dạ hợp Bidoup và T7 - lan kiếm treo cho hoạt tính ức chế KSTSR cả hai chủng trên tốt nhất với giá trị IC_{50} tương ứng trên chủng chloroquine *P. falciparum* T96 là 31,63 µg/mL; 45,09 µg/mL; 43,08 µg/mL và trên chủng *P. falciparum* K1 là 46,25 µg/mL; 48,86 µg/mL; 48,69 µg/mL. Loài T1 - giổi Bắc Bộ có hoạt tính kháng KSTSR *P. falciparum* T96 tốt nhất trong 9 loài nghiên cứu (IC_{50} 31,63 µg/mL) (Bảng 2). Tuy nhiên, trên chủng kháng chloroquine *P. falciparum* K1, hoạt tính của loài này thay đổi nhiều hơn (IC_{50} 31,63-46,25 µg/mL) so với hai loài T6 (IC_{50} 45,09-48,86 µg/mL) và T7 (IC_{50} 43,08-48,69 µg/mL). Kết quả này gợi mở việc nghiên hoạt tính kháng KSTSR kháng chloroquine *P. falciparum* K1 của hai loài T6 - dạ hợp Bidoup và T7 - lan kiếm treo. Theo tiêu chuẩn của WHO, các dịch chiết được coi là có hoạt tính kháng KSTSR và có tiềm năng tiếp tục nghiên cứu phát triển khi giá trị $IC_{50} < 100$ µg/mL.[30] Loài T2 - câu đằng lá to thể hiện hoạt tính yếu với giá trị IC_{50} trên chủng *P. falciparum* T96 là 87,18 µg/mL và không thể hiện hoạt tính trên chủng *P. falciparum* K1($IC_{50} > 100$ µg/mL). Các loài T3 - rau má, T4 - xương rắn, T5 - lan lô hội, T8 - nữ lang và T9 - bơ không thể hiện hoạt tính (IC_{50} 124,64-905,15 µg/mL (Bảng 2).

Hình 2. Bình nuôi ký sinh trùng sốt rét *P. falciparum* đặt trong tủ ấm 37 ^oC



Hình 3. Soi lam kiểm tra mật độ hồng cầu nhiễm

Bảng 2. Hoạt tính kháng KSTSR chủng *P. falciparum* T96 và *P. falciparum* K1 của các loài thực vật nghiên cứu

Tên mẫu	Tên khoa học/Tên tiếng Việt	Bộ phận chiết	IC_{50} (µg/mL)	
			***P. falciparum* T96**	***P. falciparum* K1**
T1	*Magnolia balansae*/Giổi Bắc Bộ	Cành, lá	31,63	46,25
T2	*Uncarica macrophylla*/ Câu đằng lá to	Cành, lá	87,18	110,24
T3	*Centella asiatica*/Rau má	Phần trên mặt đất	124,64	162,2
T4	*Euphorbia milii*/Xương rắn	Hoa	163,44	202,01
T5	*Cymbidium aloifolium*/Lan lô hội	Rễ	422,24	462,14
T6	*Magnolia bidoupensis*/ Dạ hợp Bidoup	Lá	45,29	48,86
T7	*Cymbidium atropurpureum*/ Lan kiếm treo	Rễ	43,08	48,69
T8	*Valeriana jatamansi*/Nữ lang	Rễ	174,57	190,08
T9	*Persea americana*/Bơ	Nhân hạt	871,44	905,15
Chloroquine	-	-	0,046	0,064

Như vậy, có thể thấy trong bốn loài có hoạt tính tốt nhất là T1 - giổi Bắc Bộ, T6 - dạ hợp Bidoup, T7 - lan kiếm treo và T2 - câu đằng lá to thì ba loài có chứa alkaloid trong thành phần hóa học là T1 - giổi Bắc Bộ, T2 - câu đằng lá to và T6 - dạ hợp Bidoup (qua khảo sát sắc ký lớp mỏng và tra cứu tài liệu như đã bàn luận ở Mục 3.1). Alkaloid được dự đoán là lớp chất góp phần tạo nên hoạt tính của ba loài trên. Loài T7 - lan kiếm treo có hoạt tính kháng KSTSR tốt, tuy nhiên cho đến nay chưa có công bố về thành phần hóa học của loài này. Đại diện các lớp chất trong chi *Cymbidium* thường là các polyphenol, flavonoid.[26]

4. KẾT LUẬN

Trong chín loài thực vật được đánh giá hoạt tính kháng KSTSR trên hai chủng nhạy chloroquine *P. falciparum* T96 và chủng kháng chloroquine *P. falciparum* K1, ba loài thể hiện hoạt tính tốt trên cả hai chủng này là giổi Bắc Bộ (*Magnolia balansae*), dạ hợp Bidoup (*Magnolia bidoupensis*) và lan kiếm treo (*Cymbidium atropurpureum*) với giá trị IC_{50} trong khoảng 31,63-48,86 µg/mL, trong đó loài giổi Bắc Bộ thể hiện hoạt tính tốt nhất. Hai loài dạ hợp Bidoup (*Magnolia bidoupensis*) và lan kiếm treo (*Cymbidium atropurpureum*) cho hoạt tính không thay đổi nhiều trên chủng kháng chloroquine *P. falciparum* K1. Điều này gợi mở khả năng tiếp tục nghiên cứu các hoạt chất có hoạt tính kháng KSTSR kháng thuốc từ hai loài này. Việc nghiên cứu chiết tách, phân lập và xác định các hợp chất có hoạt tính kháng KSTSR của các loài có hoạt tính trên hiện đang được nhóm nghiên cứu thực hiện.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Bộ Khoa học và Công nghệ đã tài trợ kinh phí để thực hiện công trình này (Nhiệm vụ Nghị định thư Việt Nam - Liên bang Nga - Myanmar, mã số: NĐT/e-Asia/23/05). Xin trân trọng cảm ơn Ban quản lý Vườn Quốc gia Vũ Quang - Hà Tĩnh, Vườn Quốc gia Bidup, Núi Bà đã hỗ trợ và tạo điều kiện để nhóm tác giả được thu thập mẫu thực vật làm đối tượng nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. A. Björkman, P. Gil, and M. Alifrangis. Alarming *Plasmodium falciparum* resistance to artemisinin-based combination therapy in Africa: The critical role of the partner drug, *Lancet. Infect. Dis.*, **2024**, *24(9)*, 540-541.
2. WHO, *World malaria report 2024: addressing inequity in the global malaria response*, **2024**.
3. https://moh.gov.vn/hoat-dong-cua-lanh-dao-bo/-/asset_publisher/TW6LTp1ZtwaN/content/khoang-7-trieu-nguoi-viet-song-trong-vung-sot-ret-luu-hanh-phai-no-luc-e-loai-tru-benh-nay-vao-nam-2030, **2024**.
4. M. M. Indradi RB, Barliana MI, Khatib A., Potential Plant-Based new antiplasmodial agent used in Papua Island, Indonesia, *Plants. (Basel)*, **2023**, *12*(9), 1813-1834.
5. O. E. Irungu B, Nyangi M, Njeru S, Koech L., Potential of medicinal plants as antimalarial agents: A review of work done at Kenya, *Front. Pharmacol.*, **2023**, *14*,1268924-1268940.
6. 6. N. -K. F. Bekono BD, Onguéné PA, Lifongo LL, Sippl W, Fester K, Owono LCO. The potential of anti-malarial compounds derived from African medicinal plants: a review of pharmacological evaluations from 2013 - 2019, *Malar. Journal*, **2020**, *19*(1), 183-218.
7. B. S. Biradar YS, Padh H. Evaluation of antiplasmodial properties in 15 selected traditional medicinal plants from India, *J. Integr. Med.*, **2020**, *18*(1), 80-85.
8. U. Qulsum, M. T. A. Azad, K. Kato. Efficacy of medicinal plants and their derived biomolecules against *Plasmodium falciparum*, *Para. Intl.*, **2024**, *103*, 102946-102954.
9. G. J. G. Ribeiro, S. L. Rei Yan, G. Palmisano, C. Wrenger. Plant extracts as a source of natural products with potential antimalarial effects: An update from 2018-2022, *Pharmaceutics*, **2023**, *15*(6), 1638-1657.
10. Võ Văn Chi. *Từ điển Cây thuốc Việt Nam*, NXB Y học, **1999**.
11. Y. T. Quan Le Tran, Jun-ya Ueda, Nhan Trung Nguyen, Yukiko Maruyama, Khurshida Begum, Hye-Sook Kimc, Yusuke Wataya, Qui Kim Tran, Shigetoshi Kadota. *In vitro* antiplasmodial activity of antimalarial medicinalplants used in Vietnamese traditional medicine, *J. Ethnopharm.*, **2003**, *86*, 249-252.
12. H. T. Julie Nguyen-Pouplin, Hung Tran, Tuyet Anh Phan, Christiane Dolecek, Jeremy Farrar, Tinh Hien Tran, Philippe Caron, Bernard Bodo, Philippe Grellier, Antimalarial and cytotoxic activities of ethnopharmacologically selected medicinal plants from South Vietnam, *J. Ethnopharm.*, **2007**, *109*, 417-427.
13. T. T. M. Đái Thị Xuân Trang, Nguyễn Trọng Tuân, Khảo sát hoạt tính kháng sốt rét của một số cây thuốc vùng đồng bằng sông Cửu Long, *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ,* **2010**, *16a*, 22-31.
14. T. D. Quan, Porzel A., Ripperger H., Sung T. V., Adamb G. Photochemistry of Artemisinin Derivatives, *Nat. Pro. Let.*, **1998**, *12*(2), 151-159.

15. W. M. D. B. Thanh Nguyen Le, Philippe Grellier, Van Cuong Pham, Wim Dehaen, Van Hung Nguyen, Synthesis of 11-aza-artemisinin derivatives using the Ugi reaction and an evaluation of their antimalarial activity, *Tetrahedron Letters*, **2014**, *55*(35), 4892-4894.

16. Viện Sốt Rét - Ký sinh Trùng - Côn trùng Trung ương, Bộ Y tế. Quy trình Kỹ thuật nuôi cấy liên tục ký sinh trùng sốt rét plamodium falciparum trong phòng thí nghiệm (nimpe.hd05.pp/13), 2016.

17. P. Rasoanaivo, Deharo, E., Ratsimamanga-Urveg, S., Frappier F., Guidelines for the nonclinical evaluation of the efficacy of traditional antimalarials, *CRC. Press*, **2004**, 256-268.

18. Q. N. V. N.-H. Xia. *Magnolia bidoupensis* (Magnoliaceae), a New Species from Vietnam, *Ann. Bot. Fennici*, **2011**, *48*(30), 525-527.

19. Y. B. Y. Dong-Hyun Min, Tae-Hun Kim, Hoon Kim, Sanghyun Lee. Pharmacological effects of pentacyclic triterpenoids isolated from *Centella asiatica*, *Hortic. Environ. Biotechnol.*, **2024**, *65*, 189-197.

20. M. S. Meng Li, Xiaobin Zhang, Douglas Law, Mukram M. Mackeen, Arnida H. Teh, Ahmad A.K. Najm, Shazrul Fazry, Babul A. Othman. Extraction, chemical composition and antidiabetic potential of crude polysaccharides from *Centella asiatica* (L.) Urban, *Pol. J. Food. Nutr. Sci.*, **2024**, *74*(2), 177-187.

21. P. F. Uzor. Alkaloids from Plants with Antimalarial Activity: A Review of Recent Studies, *Evid Based Complement.Alternat. Med*, **2020**, 8749083-8749100.

22. Xin-Xin Liang , Jin-Xuan Yang , Jian-Mei Li , Jia-Bi Huang , Liu-Meng Yang, Tian-Tian Sun , Rong-Hua Luo, Wei-Lie Xiao, Yong-Tang Zheng, Xiao-Li Li. A pair of new oxindole alkaloids isolated from *Uncaria macrophylla*, *Nat. Prod. Res.*, **2021**, *37*(8), 1258-1264.

23. T. T. T. Pham Cao Bach, Do Huu Nghi, Hoang Thi Bich, Trinh Anh Vien, Pham Minh Quan, Tran Quoc Toan, Dinh Thi Thu Thuy, Nguyen Thi Thuy, Cam Thi Inh, Pham Thi Hong Minh, Nguyen Thi Hong Van. Chemical constituents and biological activities of the seed essential oil from *Magnolia balansae* grown in Thanh Hoa province, Vietnam, *Vietnam J. Chem.*, **2023**,*61*(3), 339-347.

24. T. H. Thai, Hien, N. T., Hung, N. Q., Nam, V. Q., Rocchi, F., Paoli, M., … Casanova, J., Chemical composition and antimicrobial activity of leaf, twig, fruit bark and seed essential oils of *Magnolia balansae* A. Aug. DC. from Vietnam, *J. Essent. Oil-Bear. Plants.*, **2024**, *27*(3), 779-786.

25. T. N. U. N. Nguyen Van Ngoc, Hoang Thi Binh. Chemical composition, anti-microbial, and cytotoxic activities of essential oil from *Magnolia bidoupensis* Q. N. Vu Leaves, an endemic species to the Central Highlands of Vietnam, *Chem. Biodiver,* **2024**, *22*(3), e202402472.

26. S. C. Akhil Kumara, Shiv Rattanb, Ashish R. Wargh, Dinesh Kumar, Bhavya Bharga, In vitro propagation and phyto-chemical assessment of *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw.: An orchid of pharma-horticultural importance, *South. African. J. Botany*, **2022**, *144*, 261-269.

27. C. C. N. Uchechi Bliss Onyedikachi, Emmanuel Ejiofor, Chukwu Charles Nnanna. Investigation of chemical constituents, antioxidant, anti-inflammatory and nutritional properties of oil of *Persea americana* (Avocado) seeds, *Food. Chem. Adv.*, **2024**, *5*(2), 100770-100779.

28. R. Kaur, Nishtha, J. Kumar. Phytochemical screening, antioxidant activity and metal binding studies on floral extracts of *Euphorbia milii*, *Materials Today: Proceedings*, **2023**. inpress DOI:10.1016/j.matpr.2023.03.444

29. R. Wang, S. Shi, Y. Tan, L. Yao, L. Zhu. Chemical constituents from *Valeriana jatamansi*, *Biochem. Syst. Ecol.*, **2021**, *94*, 104177-104183.

30. E. Tasiam, R. Primaharinastiti, and W. Ekasari. *In vitro* antimalarial activity and toxicity studies of johar (*Cassia siamea*) leaves from three different locations, *Afr. J. Infect. Dis.*, **2020**, *14*(2), 23-29.

Liên hệ: **Trần Thị Phương Thảo**
Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: ntuelam2010@gmail.com.

PHÁT TRIỂN CÁC TÁC NHÂN CHỐNG UNG THƯ MỚI CHỨA CÁC KHUNG PHARMACOPHORE DỊ VÒNG

Bàn Văn Phúc[1], Trần Quang Hưng[1,3*], Đặng Thanh Tuấn[2*]

[1]Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

[2]Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN, 19, Lê Thánh Tông, Hà Nội, Việt Nam

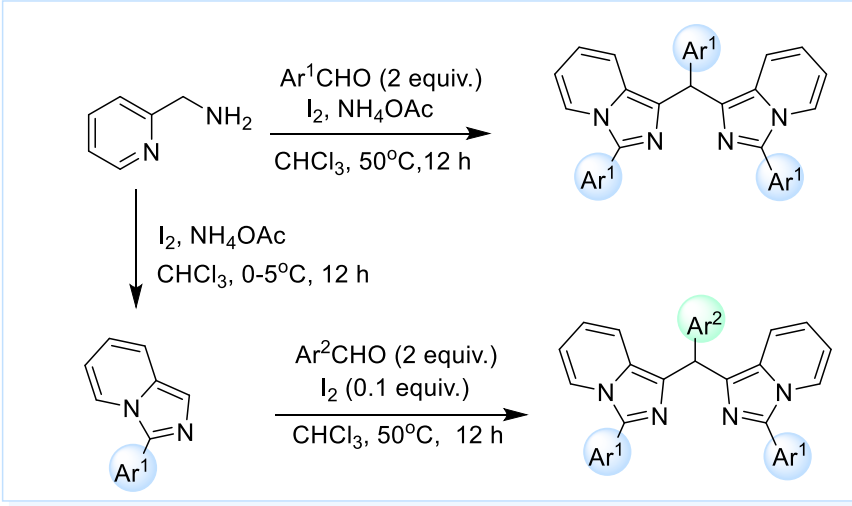
[3]Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

Nghiên cứu trình bày một phương pháp tổng hợp mới, hiệu quả cho các hợp chất bis(1-imidazo[1,5-*a*]pyridyl)arylmethane (BimPys) sử dụng iod làm xúc tác từ pyridin-2-ylmethanamine và các aldehyde tương ứng. Độc tính tế bào của các dẫn xuất BimPys được đánh giá trên ba dòng tế bào ung thư người (SK-LU-1, HepG2, MCF-7), cho thấy một số dẫn xuất có hoạt tính ức chế mạnh. Nghiên cứu cũng khảo sát khả năng tạo phức của BimPys với các ion kim loại Cu(II), Zn(II), Cd(II) và Co(II), cùng với hoạt tính kháng ung thư của các phức chất thu được. Các phức kim loại BimPys thể hiện hoạt tính vượt trội so với cisplatin (chất đối chứng). Hơn nữa, BimPys được chứng minh là phối tử hiệu quả trong phản ứng tổng hợp quinoline xúc tác đồng từ 2-aminobenzyl alcohol và ketone. Phương pháp tổng hợp này mở ra hướng tiếp cận mới, hiệu quả để điều chế các hợp chất BimPys đa dạng, có giá trị, từ đó thúc đẩy các nghiên cứu ứng dụng trong các lĩnh vực khác nhau.

Từ khóa: Imidazo[1,5-a]pyridine, bis(1-imidazo[1,5-a]pyridyl)arylmethane, iodine-promoted synthesis; hoạt tính chống ung thư, Cu-catalysed quinoline synthesis.



Liên hệ: **Trần Quang Hưng**
Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: tqhung@ich.vast.vn.

Đặng Thanh Tuấn
Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN
19, Lê Thánh Tông, Hà Nội, Việt Nam
Email: dangthanhtuan@hus.edu.vn.

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA MỘT SỐ LOÀI ĐỘNG VẬT THÂN MỀM BIỂN Ở VIỆT NAM

Nguyễn Văn Thanh

Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam,
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

Nghiên cứu thành phần hóa học của 9 mẫu sên biển và 7 mẫu ốc biển ở vùng biển miền Trung đã phân lập và xác định cấu trúc 190 hợp chất, trong đó có 63 hợp chất mới. Các hợp chất thu được có cấu trúc đa dạng, thuộc 22 lớp chất khác nhau với nhiều chất có chứa dị tố như Cl, Br, S, N và nhiều chất có cấu hình phức tạp do có nhiều tâm bất đối và cấu trúc linh động. Cấu trúc và cấu hình tuyệt đối của các hợp chất mới được xác định bằng các phương pháp phổ thực nghiệm như: HRESIMS, NMR, ECD, X-ray đơn tinh thể, kết hợp với các tính toán lý thuyết hóa lượng tử các phổ NMR và ECD. Kết quả thử hoạt tính sinh học cho thấy 54 chất có hoạt tính gây độc tế bào và 50 chất có hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định. Trong đó, có 5 hợp chất có khả năng gây ra sự tự chết theo chương trình (apoptosis) trên một số dòng tế bào ung thư.

Từ khóa: Động vật thân mềm, sên biển, ốc biển, hợp chất trao đổi thứ cấp, hoạt tính gây độc tế bào, hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định.

Liên hệ: **Nguyễn Văn Thanh**
Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: thanhcmgu@yahoo.com.

NGHIÊN CỨU CẤU TRÚC VÀ MỐI QUAN HỆ CẤU TRÚC - HOẠT TÍNH CỦA FUCOIDAN CHIẾT TÁCH TỪ RONG NÂU

Nguyễn Ngọc Anh[1], Ngô Văn Quang[2], Quách Thị Minh Thu[2], Thành Thị Thu Thủy[*]

[1]Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

[2]Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

Fucoidan là một sulfate polysaccharide có cấu trúc phức tạp, được tìm thấy trong rong nâu. Thành phần chủ yếu bao gồm đường fucose và một số đường khác như galactose, glucose, mannose,… ngoài ra còn có acid uronic và nhóm sulfate. Fucoidan có nhiều hoạt tính sinh học quý báu như: chống ung thư, chống oxi hóa, kháng khuẩn, kháng nấm, chống đông tụ máu và hoạt tính kháng virus như HIV. Gần đây, nhiều nghiên cứu đã chỉ ra mối liên hệ giữa cấu trúc và hoạt tính sinh học của fucoidan, tuy nhiên, mối quan hệ tổng thể vẫn chưa thực sự được làm rõ. Các yếu tố cấu trúc như hàm lượng và vị trí nhóm sulfate, cấu trúc mạch chính và nhánh, kiểu liên kết glycosid, trọng lượng phân tử (TLPT) cùng với sự phân bố trọng lượng phân tử được cho là có ảnh hưởng đến hoạt tính của fucoidan.

Nghiên cứu này nhằm đóng góp vào việc làm sáng tỏ quan hệ cấu trúc - hoạt tính kháng ung thư của fucoidan. Cấu trúc bao gồm cả cấu trúc hóa học và cấu hình không gian của fucoidan chiết tách từ rong nâu *Tubinaria decurrens* và các dẫn xuất TLPT thấp của nó được xác định bằng các phương pháp SEC-MALLS, NMR, ESI-MS và SAXS. Khả năng kháng ung thư được đánh giá qua hoạt tính gây độc tế bào ung thư trên dòng thế bào ung thư đại tràng ở người HT29. Kết quả cho thấy fucoidan tự nhiên có TLPT trung bình 122,6 KDa, các monosaccharide có tỷ lệ mol Fuc:Gal:Xyl:Man: Glc = 1,00:0,50:0,03:0,04:0,02. Cấu trúc mạch chính gồm (1→3)– và (1→4)–*α*–L–Fuc*p*, phân nhánh tại vị trí C–4 và nhóm sulfate gắn tại C–2, C–3 và C–4 của fucose; mạch nhánh là (1→4)–*β*–D–Gal*p* và sulfate hóa tại C–2. Các mẫu fucoidan qua phép đo SAXS được xác định là có cấu trúc hình que (*rod-like*) khi ở trong dung dịch, với bán kính hồi chuyển (R_{gc}) dao động từ 0,53-1,52 nm. Các mẫu này đều thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư, với giá trị IC_{50} từ 5,41±0,36 đến 73,52±2,54 µg/mL. Trong đó, mẫu fucoidan có TLPT thấp M_w = 28,2 KDa có hoạt tính gây độc tế ung thư cao nhất với IC_{50} = 5,41±0,36 µg/mL.

Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng để tăng cường khả năng kháng ung thư, fucoidan cần có TLPT nhỏ, phân bố khối lượng hẹp và cấu trúc hình que với mạch nhánh ngắn. Nghiên cứu này góp phần làm sáng tỏ ảnh hưởng của các yếu tố cấu trúc của fucoidan đối với hoạt tính kháng ung thư của nó.

Từ khóa: Fucoidan, *Turbinaria decurrens*, rong nâu, quan hệ cấu trúc - hoạt tính.

Liên hệ: **Thành Thị Thu Thủy**
Học viện Khoa học và Công nghệ
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: thuyttt@ich.vast.vn

ỨNG DỤNG CÁC PHƯƠNG PHÁP TÍNH TOÁN MÔ PHỎNG - KẾT HỢP TRÍ TUỆ NHÂN TẠO (AI) TRONG TÌM KIẾM VÀ THIẾT KẾ THUỐC

Phạm Minh Quân

Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/02/2025; Ngày sửa sau phản biện 20/02/2025; Ngày chấp nhận đăng 01/3/2025

Tóm tắt

Thiết kế thuốc sử dụng công cụ hỗ trợ máy tính (CADD) kết hợp với trí tuệ nhân tạo (AI) đang ngày càng có nhiều đóng góp quan trọng trong lĩnh vực Hóa dược nói chung và mang lại tiềm năng chuyển đổi cho ngành phát triển thuốc của Việt Nam nói riêng. Sự kết hợp này giúp tăng tốc quá trình xác định các ứng viên thuốc mới, tối ưu hóa nguồn lực và thời gian. CADD dựa trên AI có thể phân tích các bộ dữ liệu khổng lồ, dự đoán tương tác phân tử và nâng cao hiệu quả của thuốc. Báo cáo này sẽ cung cấp thông tin tổng quan về lịch sử, phương pháp nghiên cứu sử dụng CADD kết hợp AI trong xác định các hoạt chất tiềm năng và các giai đoạn khác trong quá trình phát triển thành thuốc.

Nội dung chính

Báo cáo này trình bày tổng quan về sự kết hợp đột phá giữa Computer - Aided Drug Design (CADD) và trí tuệ nhân tạo (AI) trong lĩnh vực nghiên cứu và phát triển thuốc. Các nội dung chính bao gồm:

1. Lịch sử phát triển của CADD.

2. Giới thiệu các ứng dụng và vai trò thiết yếu của CADD và AI trong quá trình phát triển thuốc, bao gồm việc tối ưu hóa cấu trúc phân tử, dự đoán hoạt tính sinh học và rút ngắn thời gian nghiên cứu.

3. Giới thiệu các phương pháp nghiên cứu sử dụng kết hợp CADD và AI, như học máy (machine learning), học sâu (deep learning), mô phỏng phân tử (molecular simulation) và khai khác dữ liệu (data mining).

Báo cáo sẽ góp phần đánh giá tiềm năng ứng dụng của CADD và AI tại Việt Nam. Phân tích các cơ hội để tăng cường năng lực nghiên cứu dược phẩm trong nước, phát triển thuốc điều trị các bệnh đặc hữu và thúc đẩy hợp tác, hội nhập phù hợp xu thế quốc tế trong thời kỳ Công nghiệp 4.0.

Liên hệ: **Phạm Minh Quân**
Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
18, Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam
Email: minhquanaries@gmail.com.

ISBN: 978-604-357-358-9

SÁCH KHÔNG BÁN